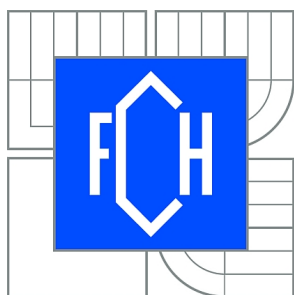




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF
ENVIRONMENTAL PROTECTION

STANOVENÍ DERIVÁTŮ POLYCYKlickÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ

DETERMINATION OF DERIVATIVES OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN THE
ENVIRONMENT

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. MICHAL ŠUBRT

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. MILADA VÁVROVÁ, CSc.

BRNO 2013



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	FCH-DIP0700/2012	Akademický rok: 2012/2013
Ústav:	Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí	
Student(ka):	Bc. Michal Šubrt	
Studijní program:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (N2805)	
Studijní obor:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805T002)	
Vedoucí práce	prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.	
Konzultanti:		

Název diplomové práce:

Stanovení derivátů polycyklických aromatických uhlovodíků v životním prostředí

Zadání diplomové práce:

1. Zpracování literární rešerše zaměřené na stanovení derivátů polycyklických aromatických uhlovodíků ve složkách životního prostředí.
2. Na základě rešerše bude proveden necílový screening na zjištění typu substitučních derivátů polycyklických aromatických uhlovodíků.
3. Pro jejich stanovení bude vybrán a na modelových vzorcích ověřen optimální postup na bázi separačních metod.
4. Optimalizovaná metoda bude použita na stanovení derivátů polycyklických aromatických uhlovodíků v reálných abiotických vzorcích odebraných ze životního prostředí.
5. Zpracování a zhodnocení získaných výsledků; jejich interpretace.

Termín odevzdání diplomové práce: 10.5.2013

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Bc. Michal Šubrt
Student(ka)

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.
Vedoucí práce

doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2013

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Cílem této diplomové práce bylo uvedení negativních vlastností polycyklických aromatických uhlovodíků v životním prostředí, s hlavním důrazem na nitro- a alkyl- deriváty těchto uhlovodíků. V rámci diplomové práce byly analyzovány vzorky požářišť z různých lokalit a v nich následně stanoveno množství alkyl- a nitroderivátů polycyklických aromatických uhlovodíků. Vzorky z požářišť byly rovněž analyzovány metodou necíleného screeningu, který bude zaměřen na polyaromatické uhlovodíky.

ABSTRACT

The aim of this thesis was putting negative characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons in the environment, with particular emphasis on the nitro and alkyl derivatives of these hydrocarbons. The thesis analyzed samples from different localities scene of the fire, and they then determined amount of alkyl and nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons. Samples from the scene of the fire were also analyzed by non-targeted screening, which will focus on polyaromatic hydrocarbons.

KLÍČOVÁ SLOVA

Polycyklické aromatické uhlovodíky, deriváty polycyklických aromatických uhlovodíků, chromatografie

KEYWORDS

Polycyclic aromatic hydrocarbons, derivatives of polycyclic aromatic hydrocarbons, chromatography

Šubrt, M. *Stanovení derivátů polycyklických aromatických uhlovodíků v životním prostředí*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2013. 63 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Milada Vávrová CSc.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem citoval správně a úplně. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování:

Rád bych poděkoval prof. RNDr. Miladě Vávrové CSc. za odborné vedení, cenné rady a připomínky při zpracovávání mé diplomové práce.

OBSAH

1. ÚVOD	7
2. POLYCYKlickÉ AROMATICKÉ UHLOVODÍKY.....	8
2.1. Základní charakteristika.....	8
2.2. Vlastnosti PAH.....	8
2.3. Výskyt PAH v životním prostředí.....	8
2.4. Zdroje PAH	10
2.5. Nebezpečné vlastnosti PAH a jejich dopad na zdraví člověka.....	10
2.6. Legislativa v oblasti PAH	12
2.6.1. Evropská nařízení a mezinárodní úmluvy	12
2.6.2. Legislativa ČR.....	12
2.7. Výskyt PAH v jednotlivých složkách životního prostředí.....	12
2.8. Stav znečištění PAH v ČR	14
3. SUBSTITUOVANÉ POLYAROMATICKÉ UHLOVODÍKY	17
3.1. Úvod	17
3.2. Vlastnosti a výskyt derivátů PAH.....	17
3.3. Nitroderiváty PAH.....	18
3.3.1. Základní charakteristika	18
3.3.2. Vznik a reakce nitroderivátů v atmosféře	19
3.3.3. Stav znečištění prostředí nitroderiváty	21
3.3.4. Toxikologické vlastnosti nitroderivátů a jejich metabolismus	22
3.4. Alkyl- deriváty PAH	22
3.4.1. Základní charakteristika	22
3.4.2. Zdroje a vznik alkyl- derivátů.....	23
3.4.3. Toxikologické vlastnosti alkyl PAH.....	23
3.5. Oxy- a hydroxy- deriváty PAH.....	23
4. POSTUP IZOLACE ANALYTŮ A PŘÍPRAVY VZORKU PRO STANOVENÍ PAH	25
4.1. Vzorkování PAH z environmentálních matric	25
4.2. Izolace PAH z environmentálních matric.....	27
4.2.1. Extrakce v Soxhletově přístroji	28
4.2.2. Extrakce rozpouštědlem za zvýšeného tlaku (PSE).....	28
4.2.3. Extrakce pomocí ultrazvuku (USE).....	28
4.2.4. Extrakce kapalina-kapalina (LLE).....	29
4.2.5. Superkritická fluidní extrakce.....	29
4.3. Zakoncentrování a přečištění PAH	30
4.3.1. Kolonová chromatografie	30
4.3.2. Gelová permeační chromatografie (GPC)	31
4.3.3. Přečištění extraktu	31
5. ANALYTICKÉ STANOVENÍ PAH.....	32
5.1. Plynová chromatografie	32
5.1.1. Nosný plyn.....	33
5.1.2. Regulátor tlaku a průtoku	33
5.1.3. Injektory	33
5.1.4. Kolony	33

5.1.5. Termostat	34
5.1.6. Detektory v plynové chromatografii	34
5.2. Dvojdimenzionální plynová chromatografie GC x GC	35
5.2.1. Kolony	35
5.2.2. Modulátor	35
5.2.3. Detektory	36
5.3. Hmotnostní spektrometrie (MS).....	36
5.3.1. Iontový zdroj a techniky ionizace.....	37
5.3.2. Analyzátoři v MS.....	38
5.3.3. Detektory v MS	39
5.3.4. Vakuový systém	39
6. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	40
6.1. Optimalizace eluce PAH.....	40
6.1.1. Laboratorní přístroje a vybavení.....	40
6.1.2. Použité chemikálie	40
6.1.3. Postup	40
6.2. Optimalizace přípravy silikagelu.....	41
6.3. Optimalizace extrakce	41
6.4. Odběr vzorků	42
6.5. Příprava a analýza reálných vzorků	43
6.5.1. Laboratorní přístroje a vybavení.....	43
6.5.2. Použité chemikálie.....	43
6.5.3. Pracovní postup	43
6.5.4. Analýza plynovou chromatografií s hmotnostně spektrometrickou detekcí	44
7. VÝSLEDKY A DISKUZE	46
7.1. Optimalizace eluce	46
7.2. Optimalizace přípravy silikagelu.....	47
7.3. Identifikace polutantů v jednotlivých vzorcích požářišť.....	48
7.4. Stanovení alkylderivatů PAH v reálných vzorcích	55
8. ZÁVĚR.....	58
9. SEZNAM ZDROJŮ	59
10. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	64

1. ÚVOD

V době 21. století je kladen velký důraz na ochranu životního prostředí, a to zejména z hlediska negativního působení člověka. Jeho činnost totiž přímo souvisí s distribucí nebezpečných látek do všech složek životního prostředí. Činností člověka dochází jak ke znečištění hydrosféry, tak rovněž atmosféry a pedosféry. S neustálým rozvojem přístrojové techniky a jejího zdokonalování dochází k výraznému nárůstu sledování polutantů v životním prostředí. Je totiž známo, že mají negativní dopad nejen na celý ekosystém planety, ale především i na zdraví člověka. Polutanty se dostávají až do potravního řetězce a kontaminují jeho jednotlivé části.

Mezi nejvýznamnější kontaminanty životního prostředí patří bezesporu persistentní organické polutanty, které zahrnují velké množství různorodých alifatických, cyklických, aromatických i heterocyklických organických sloučenin, z nichž nejznámější jsou polychlorované bifenyly a dioxiny. Jedná se o látky, které dlouhodobě setrvávají v životním prostředí a mají schopnost bioakumulace. V mnoha případech mají podobné vlastnosti jako hormony, takže často dochází k ovlivňování reprodukce u živočichů. U většiny těchto látek již bylo prokázáno, že se vyznačují karcinogenními a mutagenními vlastnostmi.

V předložené diplomové práci jsem se zabýval především skupinou polycyklických aromatických uhlovodíků, se zvláštním zřetelem na alkyl- a nitro- deriváty. Rovnováha mezi vznikem a degradací PAH byla narušena v 19. století v období průmyslové revoluce. Nejvyšší procento nárůstu bylo způsobeno především spalováním fosilních paliv. V dnešní době je kladen důraz na snižování množství těchto emisí v životním prostředí, a proto je důležité monitorovat tyto látky ve všech složkách životního prostředí.

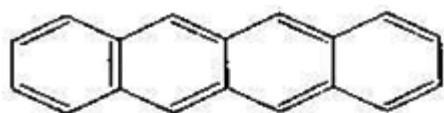
Hlavním úkolem předložené studie bylo ověřit a případně vypracovat a optimalizovat metody, které by byly vhodné pro analýzu těchto derivátů. Tyto ověřené metody byly následně použity pro stanovení koncentrací, eventuálně jejich obsahů ve vzorcích půdy odebraných z požářišť z různých lokalit České republiky. Rovněž bude navržen a vypracován necílený screening pro hodnocení úrovně kontaminace terestrických ekosystémů.

2. POLYCYKlickÉ AROMATICKÉ UHLOVODÍKY

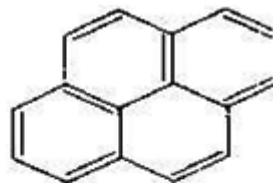
2.1. Základní charakteristika

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH) tvoří skupinu látek, kam patří více jak 100 jednotlivých sloučenin. Strukturně jsou PAH tvořeny vodíkem a uhlíkem a minimálně 2 benzenovými jádry [1].

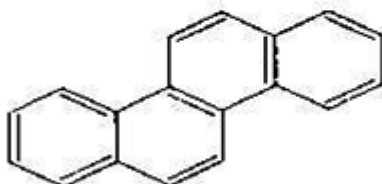
PAH se rozděluje na základě uspořádání benzenových jader. Můžeme je rozdělit do 3 skupin: lineární, angulární a klastrové. Díky tomuto prostorovému uspořádání mohou být substituenty vázány různě, což má za následek vysokou rozmanitost PAH. Navíc bylo prokázáno, že prostorové uspořádání ovlivňuje jejich stabilitu. Stabilita roste směrem od lineárních k angulárním PAH. Jednotlivé uspořádání je patrné z následujícího obrázku. Nejčastějšími substituenty jsou alkyl, nitro, halogen, amino a hydroxy skupiny. Substituenty mohou být také různé oxidační produkty, jakými jsou např. chinony, karbonyly a karboxylové kyseliny [5, 12].



lineárně anelované (tetracen)



klastrové (pyren)



angulární (chrysen)

Obr. č. 1: Uspořádání benzenových jader v PAH[2]

2.2. Vlastnosti PAH

Za normálních podmínek jsou PAH bílé až žluté krystalické látky. Jejich rozpustnost ve vodě je slabá, avšak výborně se rozpouští v tucích a olejích, což poukazuje na jejich lipofilní charakter. Fyzikální a chemické vlastnosti individuálních sloučenin závisí na jejich molekulové hmotnosti. S rostoucí molekulovou hmotností klesá jejich těkavost nebo rozpustnost ve vodě a naopak roste jejich bod tání, varu a lipofilita[1, 3].

2.3. Výskyt PAH v životním prostředí

Polycyklické aromatické uhlovodíky byly detekovány ve všech složkách životního prostředí. Jsou to látky, které bývají převážně sorbovány na povrchu tuhých částic. Sorpce na povrchy

polétavého prachu způsobily, že tyto prioritní kontaminanty byly detekovány i v oblastech velmi vzdálených od průmyslových oblastí a městských center. Na povrchy tuhých částic se dostávají částečně kondenzací a absorpčním mechanismem. Ke kondenzaci dochází zejména při ochlazování emisí [1, 6].

Doba setrvání PAH je různá v různých částech prostředí. Doba setrvání závisí jak na vlastnostech sloučeniny, tak také na vlastnostech složek životního prostředí. Nejdelší doba perzistence těchto polutantů byla zjištěna v sedimentech, jak je zřejmé z následující tabulky [2].

Tabulka č. 1: Kategorie vybraných PAH v jednotlivých složkách životního prostředí [2]

Sloučenina	Ovzduší	Voda	Půda	Sediment
	Kategorie			
naftalen	2	4	7	6
acenaftalen	3	5	7	8
fluoren	3	5	7	8
fenanthren	2	5	7	8
anthracen	3	5	7	8
pyren	4	6	8	9
fluoranthren	4	6	8	9
chrysen	4	6	8	9
benzo(a)anthracen	4	6	8	9
benzo(k)fluoranthren	4	6	8	9
benzo(a)pyren	4	6	8	9
dibenzo(ah)anthracen	4	6	8	9

Tabulka č. 2: Doby setrvání jednotlivých kategorií v životním prostředí [2]

kategorie	rozmezí (hod.)
1	<10
2	10 - 30
3	30 – 100
4	100 – 300
5	300 – 1 000
6	1 000 – 3 000
7	3 000 – 10 000
8	10 000- 30 000
9	>30 000

Díky své vlastnosti setrvávat dlouhodobě ve složkách životního prostředí jsou PAH typickými zástupci perzistentních organických polutantů, což znamená, že PAH velmi dobře odolávají přirozeným rozkladným procesům[6].

Jak již bylo výše zmíněno, polyaromatické uhlovodíky jsou převážně sorbovány na povrchu tuhých částic, avšak dochází i k jejich distribuci v plynné fázi. Na částice v plynné fázi není

kladen takový důraz. Důvodem je větší škodlivost PAHs nasorbovaných na tuhých částicích na zdraví člověka [1].

Distribuce PAH v atmosféře mezi plynnou a tuhou fází závisí na mnoha faktorech, ze kterých jsou nejdůležitější teplota, množství tuhých částic a jejich povrch a zejména afinita jednotlivých PAH k matrici. Předpokládá se, že až 75 % PAH je sorbováno na nejjemnější frakce tuhých částic, tzn. respirabilní submikronové velikosti (PM_{10}). Těkavější PAH jsou naopak jako produkt kondenzace vázány na hrubší částice ($PM_{2,5}$ nebo PM_{10}). Výjimku tvoří fluoranthen. V atmosféře PAH podléhají řadě procesů, jakými jsou distribuce, transport, degradace a depozice [2, 6].

2.4. Zdroje PAH

Polycyklické aromatické uhlovodíky jsou chemické sloučeniny, které se běžně nevyrábějí, avšak do ovzduší se dostávají především antropogenní činností. Největší množství PAH vzniká při nedokonalém spalování veškerých látek obsahujících uhlík. V podstatě se jedná o spalování všech druhů uhlíkatých paliv [1, 2].

PAH se mohou do životního prostředí dostat z následujících zdrojů:

- Antropogenní zdroje (spalovací procesy, koksárenství, rafinerie ropy, výroba hliníku, uvolňování z asfaltů, zplyňování a zkapalňování uhlí, cigaretový kouř);
- Neantropogenní zdroje (lesní požáry, vulkanická činnost, biochemická syntéza mikroorganismů).

PAH se do těla člověka dostávají různými způsoby, především však z ovzduší a potravy. Do potravy se PAH dostávají depozicí z atmosféry, případně tzv. kulinářskými úpravami. Zdroji kontaminace povrchu potravin jsou hlavně produkty pyrolýzy, a to jak tuky, který skapává na topnou plochu, tak také použitého paliva nebo při grilování, kdy vznikají při vzájemném kontaktu potravin s plamenem. Bylo zjištěno, že při grilování kachních prsou je koncentrace PAH $320 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, při uzení je to $210 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ a při dušení $8,6 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ [5].

Dalším zdrojem kontaminace je cigaretový kouř. Pokud potravou přijímáme denně 50 až 290 ng a z ovzduší 20 ng, potom člověk, který vykouří denně 20 cigaret, si zvýší denní příjem o dalších 210 ng. Pobyt v zakouřené místnosti může příjem benzo[a]pyrenu také výrazně zvýšit, a to asi o 10 ng za každou hodinu strávenou v zakouřené místnosti [1].

Každý zdroj emisí PAH je charakteristický vznikem určitých typů sloučenin. Jejich koncentrace nejsou nikterak velké, ale jsou specifické pro jednotlivé zdroje kontaminace. Např. doprava je zdrojem těžkých PAH, jako jsou koronen a benzo[ghi]perylen, spalovací procesy jsou naopak zdrojem fluoranthenu a pyrenu a pro spalování uhlí je charakteristická přítomnost sirných heterocyklických polyaromatických sloučenin (benzofluoranthieny, dibenzofluoranthieny, aj.) [1, 2].

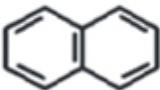

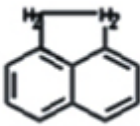
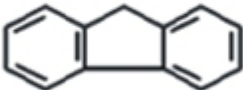
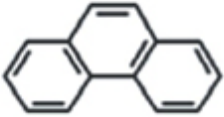
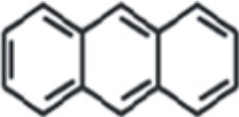
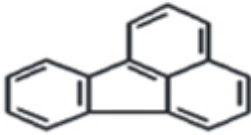
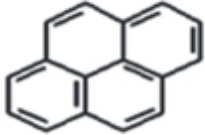
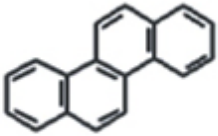
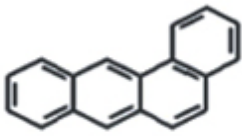
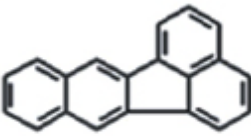
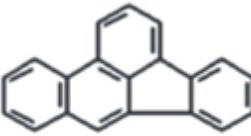
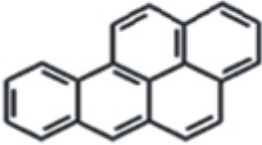
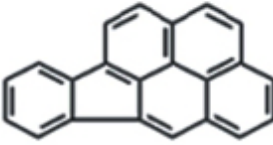
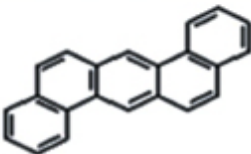
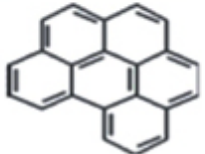
2.5. Nebezpečné vlastnosti PAH a jejich dopad na zdraví člověka

Toxikologické vlastnosti PAH jsou sledovány od počátku minulého století, kdy se japonským vědcům podařilo prokázat karcinogenní účinky PAH. PAH jsou chemické sloučeniny, které charakteristicky zapáchají, mají dráždivé účinky na oči a kůži a dokonce již u nich byly prokázány negativní účinky na ledviny a játra. K nejzávažnějším negativním vlastnostem PAH patří jejich mutagenita a karcinogenita [1, 3].

Podle vzniku mutagenních efektů lze PAH rozdělit na mutageny přímé a nepřímé. U přímých mutagenů dochází ke vzniku mutagenních účinků ihned po vstupu do organismu; znamená to, že jejich mutagenita je dána přímo jejich reaktivitou. Nepřímé mutageny nejsou po vstupu do organismu mutagenní, avšak jejich metabolismus podporovaný mikrosomálními enzymy vede ke vzniku vysoce mutagenních produktů [2, 5].

Výrazným nebezpečím je u těchto polutantů také jejich karcinogenita. Nejznámějším a nejvíce prozkoumaným zástupcem PAH je benzo[a]pyren. U tohoto zástupce byl dokonce plně objasněn mechanismus, kterým poškozuje genetickou informaci buněk. Nachází se nejen v cigaretovém kouři, ve spalínách po spalování dřeva, uhlí ale také ve výfukových plynech. Některé osoby mohou být citlivější vůči expozici PAH; platí to např. pro kuřáky, osoby často se slunící, osoby s poruchami jater a ledvin. Rovněž již bylo prokázáno, že může také docházet k ovlivnění plodu, a to průnikem PAH přes placentu [8, 9].

Díky těmto nežádoucím vlastnostem došlo k nárůstu analýz PAH, a to téměř ve všech složkách životního prostředí. Převážně se stanovují jako Σ PAH (součet jednotlivých PAH). Podle US EPA bylo pro hodnocení Σ PAH zvoleno 16 základních zástupců PAH [9].

			
Naftalen	Acenaftylen	Acenaften	Fluoren
			
Fenanthren	Anthracen	Fluoranthen	Pyren
			
Chrysen	Benzo[a]anthracen	Benzo[k]fluoranthen	Benzo[b]fluoranthen
			
Benzo[a]pyren	Indeno[1,2,3cd]pyren	Dibenzo[a,h]anthracen	Benzo[g,h,i]perylen

Obr.č. 2: PAH stanovované v síti imisního monitoringu ČR[9]

2.6. Legislativa v oblasti PAH

2.6.1. Evropská nařízení a mezinárodní úmluvy

Díky průkazu škodlivých vlastností těchto perzistentních organických polutantů došlo k rozvoji legislativy v této oblasti. Snaha o omezování PAH ve složkách životního prostředí vedla ke vzniku zákonů a vyhlášek stanovujících nejvyšší přípustné koncentrace ve složkách životního prostředí a také ke vzniku několika mezinárodních úmluv. Základním dokumentem EU o omezení PAH v životním prostředí bylo Rozhodnutí Komise 2000/479/ES o vytvoření Evropského registru emisí znečišťujících látek podle článku 15 směrnice Rady 96/61/ES o integrované prevenci a omezování znečištění (IPPC), na které navázalo zřízení Evropského registru vypouštění a přenosů znečišťujících látek.

Dále došlo k podpisu mezinárodních úmluv, kterými především byly [16]:

- Montrealský protokol - o látkách poškozujících ozónovou vrstvu Země
- Stockholmská úmluva - o persistentních organických polutantech
- CLRTAP - o dálkovém přeshraničním znečišťování ovzduší a související protokoly
- UNFCCC Kjóto - rámcová úmluva Organizace spojených národů o změně klimatu

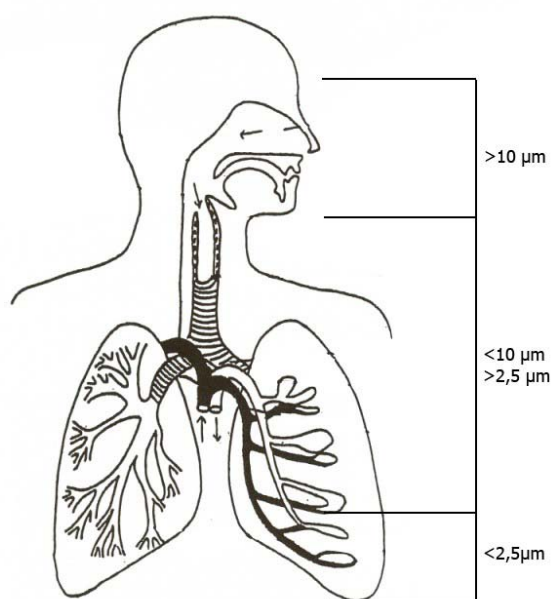
2.6.2. Legislativa ČR

I česká legislativa se začala zabývat otázkou přítomnosti PAH v životním prostředí. Bylo vydáno několik zákonů, které se zabývají otázkou PAH v jednotlivých složkách životního prostředí. Legislativní otázkou se zabývá především zákon č. 254/2001, který definuje v příloze 1 zvláště nebezpečné chemické látky, dále je to zákon č. 356/2003 o chemických látkách a přípravcích a změně některých zákonů, případně nařízení vlády č. 61/2003 Sb., kde jsou v příloze 1 tohoto nařízení uvedeny emisní standardy ukazatelů přípustného znečištění odpadních vod. Tyto standardy určují hodnotu nejvyšší přípustné koncentrace v odpadních průmyslových vodách vzhledem na zaměření průmyslu. Dalším dokumentem je vyhláška č. 232/2004 Sb., kde je v příloze 1 prezentován seznam závazně klasifikovaných nebezpečných chemických látek a způsob jeho používání. V neposlední řadě je to vyhláška č. 205/2009 Sb., o zjišťování emisí ze stacionárních zdrojů a o provedení některých dalších ustanovení zákona o ochraně ovzduší, ve které je stanovena nejvyšší přípustná koncentrace PAH v odpadních plynech. Tato hodnota byla stanovena na $0,2 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ při přesně definovaném hmotnostním toku [14, 15].

2.7. Výskyt PAH v jednotlivých složkách životního prostředí

PAH se vyskytují v ovzduší převážně sorbované na tuhé částice, avšak rovněž jsou obsaženy v plynné fázi. V plynné fázi je možný převážně výskyt 2 - 4 jaderných PAH majících velkou tenzi par při normální teplotě, zatímco PAH s větším počtem benzenových jader mají nízkou tenzi par a prakticky se nevyskytují volně v ovzduší, ale dochází k jejich sorpci na tuhé částice. Důležitá je velikost těchto částic vzhledem ke zdraví člověka. Zatímco částice nad $10 \mu\text{m}$ člověk vykašle, částice do $10 \mu\text{m}$ se již dostávají do horních cest dýchacích a dále. Jemnější frakce do $2,5 \mu\text{m}$ se potom dostávají až do plic, kde se usazují. Nejjemnější frakce

pod $1\text{ }\mu\text{m}$ se může přes plicní sklípky dostat až do krevního řečiště, kde se spolupodílí na vzniku kardiovaskulárních chorob. Při koncentraci menší než $0,1\mu\text{m}$ již nedochází k uvolňování PAH. Rychlost jejich rozkladu v ovzduší je převážně ovlivněna nosičem. Vliv slunečního záření může být sice potlačen, avšak nosič může katalyticky působit na reakce PAH s ostatními složkami atmosféry. Při reakci s kyslíkem nebo ozonem dochází ke vzniku hydroxy-derivátů nebo chinonů. S oxidy síry, tj. s SO_2 nebo SO_3 , bude pravděpodobně docházet k sulfonaci a s volnými radikály dojde k alkylaci nebo alkoxylationi. Neméně důležitý bude také vznik nitroderivátů, a to reakcemi s oxidy dusíku. Ovzduší představuje hlavní zdroj kontaminace ostatních složek životního prostředí, protože atmosférickou depozicí dochází ke kontaminaci bioty, půdy i vodních zdrojů [7, 8, 9, 10].



Obr.č.3: Oblasti zachytávání částic vzhledem k jejich velikosti[9]

Jestliže je ve vodě prokazován zvýšený výskyt PAH, je to většinou způsobeno přítomností suspendovaných částic, na kterých jsou PAH sorbovány. Přítomnost 2 - 3 aromatických kruhů ve vodě se projevuje ostrým zápachem vody, což je charakteristické zejména pro naftalen. Velmi důležitá je také rozpustnost PAH ve vodě, která prudce klesá s rostoucím počtem jader, jak vyplývá z následující tabulky. U povrchových a odpadních vod musíme počítat i s působením ostatních látek na rozpustnost; platí to především pro tenzidy nebo různá rozpouštědla [9, 10].

Tabulka č.3: Rozpustnost PAH ve vodě při 25°C[9]

Složka	vzorec	Rozpustnost mg · l ⁻¹
Naftalen	C ₁₀ H ₈	31,7
Fluoren	C ₁₃ H ₁₀	1,98
Anthracen	C ₁₄ H ₁₀	0,073
Fenanthren	C ₁₄ H ₁₀	1,29
Fluoranthren	C ₁₆ H ₁₀	0,26
Pyrene	C ₁₆ H ₁₀	0,135
Benz[a]anthracen	C ₁₈ H ₁₂	0,014
Chrysen	C ₁₈ H ₁₂	0,002
Benzo[a]pyren	C ₂₀ H ₁₂	0,003 8
Koronen	C ₂₄ H ₁₂	0,000 414

PAH se koncentrují ve svrchních vrstvách půdy, kde zůstávají díky svým vlastnostem dlouhou dobu. Hlavní cesty vstupu PAH z kontaminované půdy do organismu tvoří ingesce půdních částic a prachu, speciálně v případě malých dětí, a také konzumace potravin pěstovaných na takové půdě. V nejvyšších koncentracích (okolo 10¹ - 10² mg · kg⁻¹), se vyskytují v oblastech koksáren, plynáren a v okolí silnic a železničních tratí [9].

2.8. Stav znečištění PAH v ČR

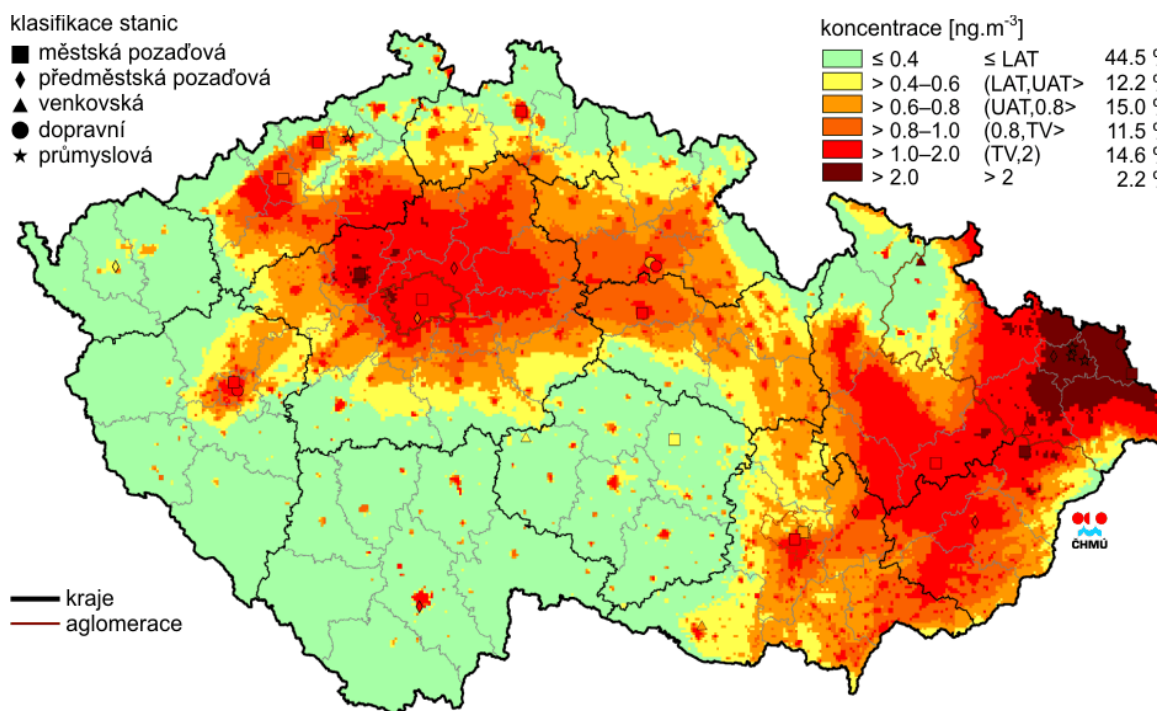
V rámci imisního monitoringu se od roku 2004 v ČR sleduje hodnota benzo[a]pyrenu (BaP), který slouží jako marker při zjišťování znečištění na vybraných lokalitách ČR. Pro měření je využívána metoda US EPA TO13A[2, 9].

V roce 2011 byla koncentrace BaP sledována na 33 lokalitách, z toho na 24 lokalitách překročily průměrné roční koncentrace cílový imisní limit (1 ng · m⁻³). Nejvyšší průměrná roční koncentrace byla naměřena v průmyslové oblasti Ostrava - Radvanice, kde došlo k překročení cílového limitu více než desetinásobně. K překročení imisního limitu došlo také v řadě dalších měst a obcí. Celkově se překročení limitů týká 16,8 % území ČR. Procento obyvatel zasažených nadlimitními koncentracemi se odhaduje na 60 %. Problematický je monitoring lokálních topenišť, která nejsou v blízkosti měřících stanic. Tento vliv lze alespoň částečně doložit mapou roční koncentrace BaP, kde bylo realizováno měření v malých sídlech na území Moravskoslezského a Olomouckého kraje, což se projevilo nárůstem území, kde došlo k překročení imisního limitu. Proto se dá předpokládat, že s nárůstem měřících stanic bude docházet i k nárůstu počtu území s překročením imisního limitu [3, 9].

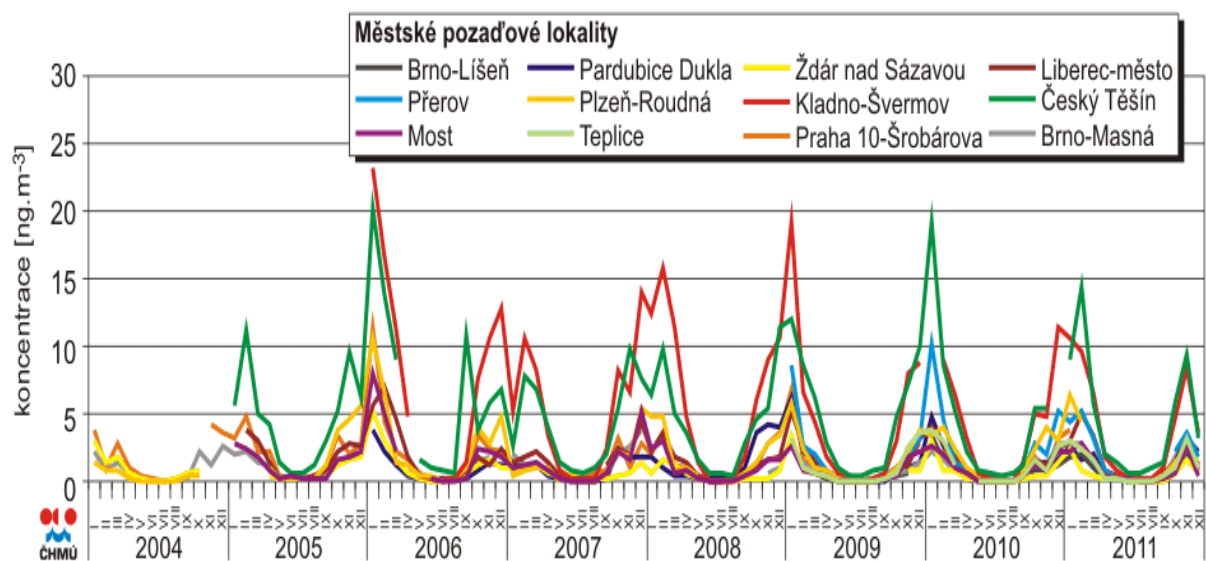
K maximu koncentrací dochází v zimním období, a to právě díky vysokému vlivu lokálních topenišť, dále v důsledku horších rozptylových podmínek a jednodušší konverzi plyn-částice. Minimální koncentrace jsou zjišťovány v letních obdobích, protože je ukončena topná sezóna. Dalším vlivem na snížení koncentrace BaP v letních obdobích má chemický a fotochemický rozklad BaP[2, 3, 10]. Na následujících obrázcích (č. 4 a č. 5) jsou znázorněny průměrné koncentrace BaP v ovzduší za rok 2011 a průměrné měsíční koncentrace BaP v různých městských lokalitách ČR).

Tabulka č. 5.: Stanice s nejvyššími hodnotami ročních koncentrací BaP[10]

Lokalita	okres	Roční koncentrace (ng·m ⁻³)
Ostrava-Radvanice	Ostrava-město	10,12
Karviná	Karviná	7,44
Ostrava-Přívoz	Ostrava-město	4,65
Český Těšín	Karviná	4,40
Valašské Meziříčí - Obora II	Vsetín	4,03
Kladno-Švermov	Kladno	3,91
Ostrava-Mariánské hory	Ostrava-město	3,45
Ostrava-Poruba	Ostrava-město	3,38
Heřmanovice	Bruntál	2,07
Přerov	Přerov	1,85



Obr.č.4: Roční průměrné koncentrace BaP v ovzduší pro rok 2011[2]



Obr.č.5: Měsíční průměrné koncentrace BaP v různých městských lokalitách [2]

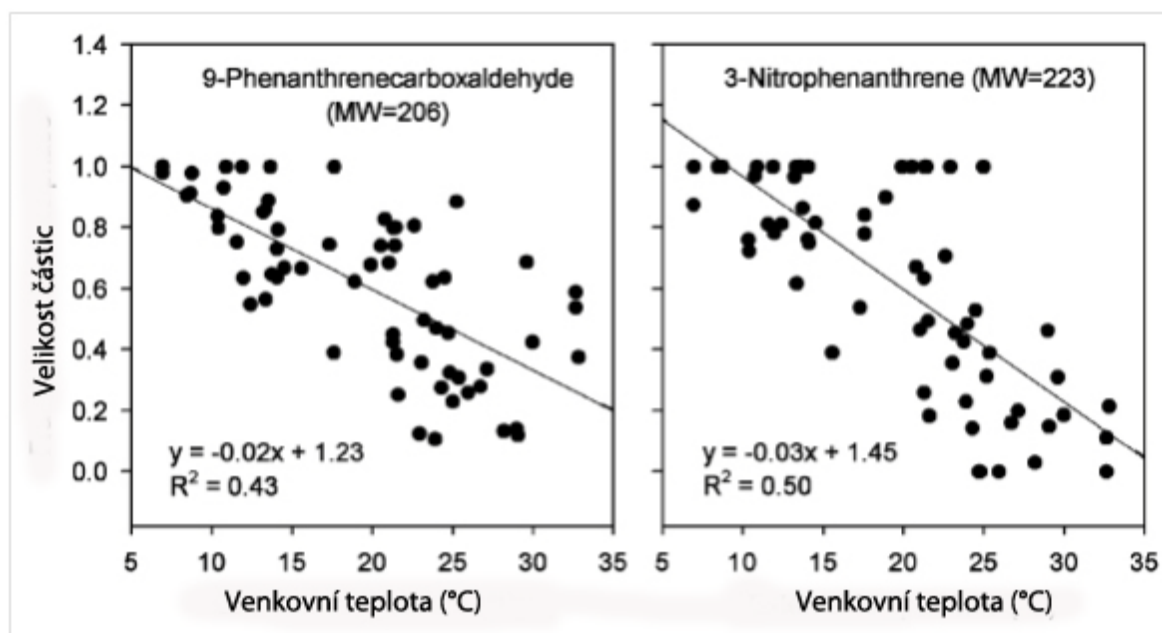
3. SUBSTITUOVANÉ POLYAROMATICKÉ UHLOVODÍKY

3.1. Úvod

V rámci provádění různých studií bylo prokázáno, že v atmosféře nejsou jediným zdrojem znečištění mateřské PAH, protože v environmentálním prostředí bylo detekováno mnoho jejich derivátů, zejména substitučních. Mezi nejvýznamnější deriváty patří nitro-, oxy-, hydroxy- a alkyl- PAH.

3.2. Vlastnosti a výskyt derivátů PAH

Mezi základní vlastnosti derivátů PAH patří jejich bod tání, bod varu, tenze par a rozpustnost ve vodě. Tyto vlastnosti jsou ovlivněny především molekulovou hmotností jednotlivých derivátů PAH. Molekulová hmotnost také určuje formu výskytu jednotlivých derivátů. Jak již bylo zmíněno výše, PAH s nižší molekulovou hmotností se mohou nacházet v atmosféře v plynné fázi, zatímco PAH s molekulovou hmotností vyšší jsou sorbovány na povrchu pevných částic [13, 14].

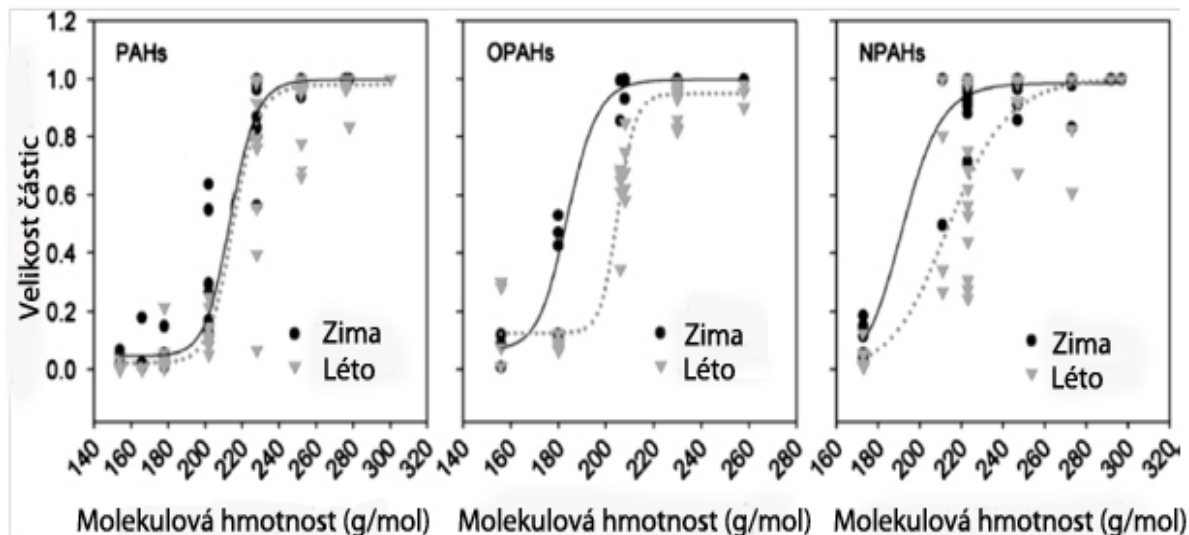


Obr.č.6: Výskyt partikulární frakce PAH, oxy-PAH a nitro-PAH v závislosti na molekulové hmotnosti[13]

Dalším výrazným faktorem pro výskyt PAH je i lokalita. Jak vyplývá z poznatků o jednotlivých zdrojích znečištění PAH, větší výskyt derivátů PAH bude v městských aglomeracích, kde má na vznik derivátů prioritní vliv průmysl a doprava a v neposlední řadě především spalování fosilních paliv.

Na vliv lokality přímo navazuje vliv vnějšího prostředí; oba dva ukazatele proto můžeme považovat za výrazné faktory mající vliv na transport a dobu výskytu jednotlivých PAH v

ovzduší. Mezi další důležité ukazatele patří relativní vlhkost, teplota a koncentrace částic v ovzduší. Z obrázku č. 7 vyplývá, jaký vliv má teplota na rozdělení substitučních derivátů PAH mezi jednotlivé frakce [13, 14].

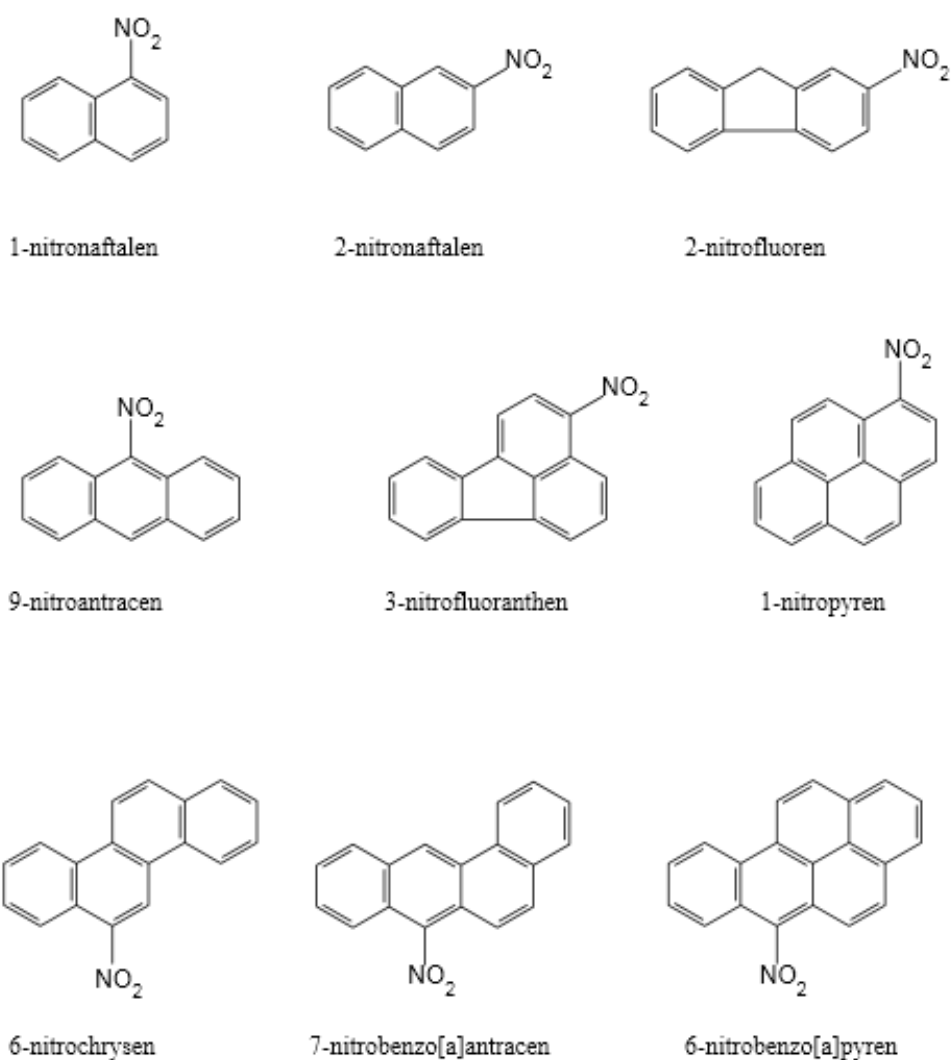


Obr. č.7: Distribuce derivátů mezi jednotlivé frakce v závislosti na teplotě prostředí[13]

3.3. Nitroderiváty PAH

3.3.1. Základní charakteristika

Nitro- PAH jsou rozšířeným kontaminantem životního prostředí. Tyto deriváty se dostávají do životního prostředí především z dieselových emisí, ze spalování petroleje, z ropných derivátů a rovněž ze spalování uhlí, protože jsou sorbovány na popílku. Vzhledem k jejich prokázané genotoxické aktivitě, karcinogenitě i mutagenitě, představuje mnoho látek z této skupiny významné zdravotní riziko pro člověka. Nitroderiváty jsou asi 10tisíckrát více mutagenní a 10krát více karcinogenní než nesubstituované PAH. V ovzduší se vyskytují většinou v koncentracích okolo $10^{-2} - 10^2 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$, tj. v koncentraci o několik řádů nižší než mateřské PAH [15, 16, 28].



Obr.č. 8: Příklady nitroderivátů PAH [17]

3.3.2. Vznik a reakce nitroderivátů v atmosféře

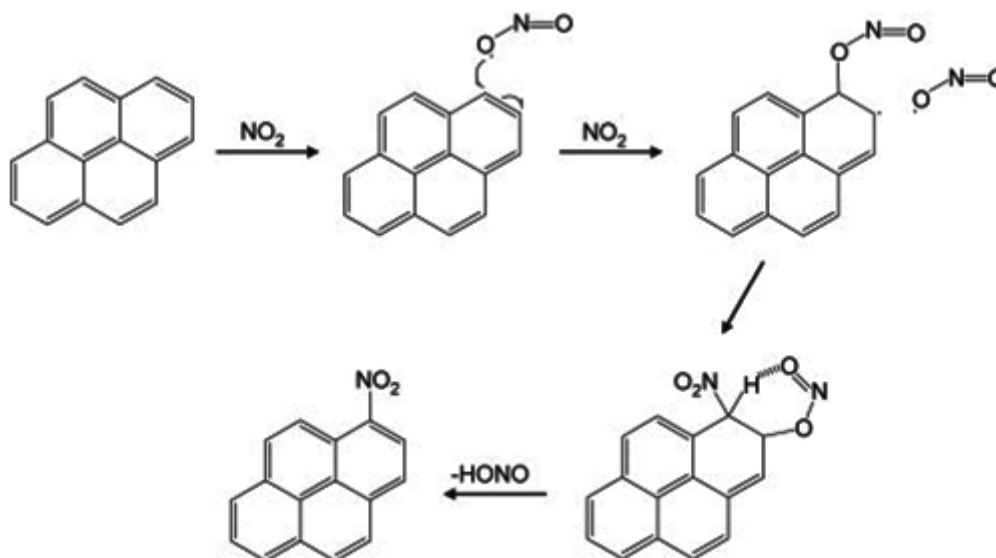
Nitroderiváty vznikají také atmosférickými reakcemi mateřských PAH přímo v atmosféře. Tyto reakce mohou probíhat:

- ve dne
- v noci.

Ve dne má hlavní vliv na nitraci mateřských PAH hydroxylový radikál OH^* . Tento radikál napadá aromatický kruh v místě s nejvyšší elektronovou hustotou v molekule PAH (např. u pyrenu je tohle místo jen jedno, zatímco u fluoranthenu jsou tato místa 3). Dalším krokem je adice NO_2 . Přitom dochází ke ztrátě vody a ke vzniku nitroderivátů [16].

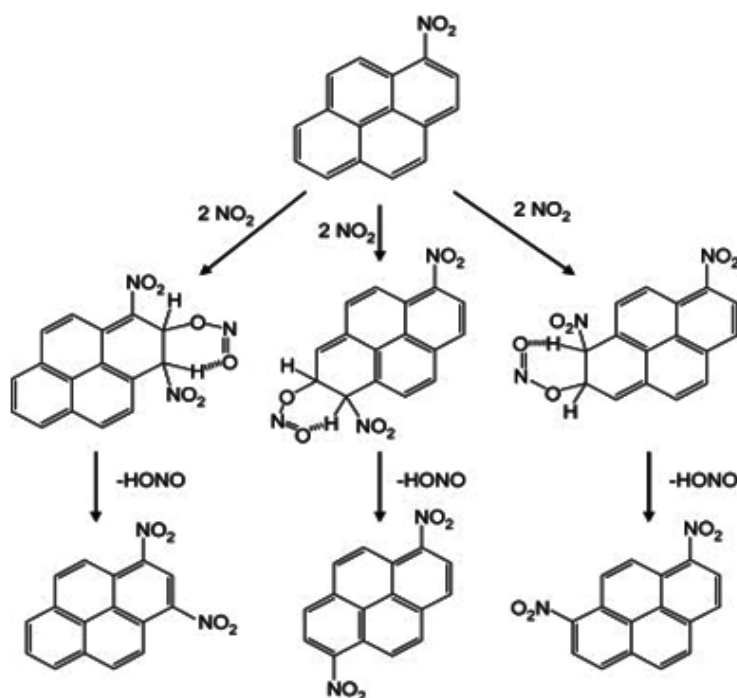
V noci je reakce hodně obdobná. Nevystupuje v ní však hydroxylový radikál, ale nitrátový radikál NO_3^* , a to v přítomnosti NO_x . I v tomto případě radikál, tentokrát nitrátový, napadá aromatické jádro v místě s nejvyšší elektronovou hustotou; po ataku dochází k adici NO_2 a ke ztrátě kyseliny dusičné [16, 29].

Poslední možností vzniku těchto derivátů, která byla v literatuře popsána, je heterogenická reakce s NO_2 za tmy. Tato reakce byla předmětem studie zaměřené právě na mechanismus nitrace pyrenu, která byla zpracována ve francouzském Bordeaux [29].



Obr.č.9: Příklady nitrace pyrenu za tmy [29]

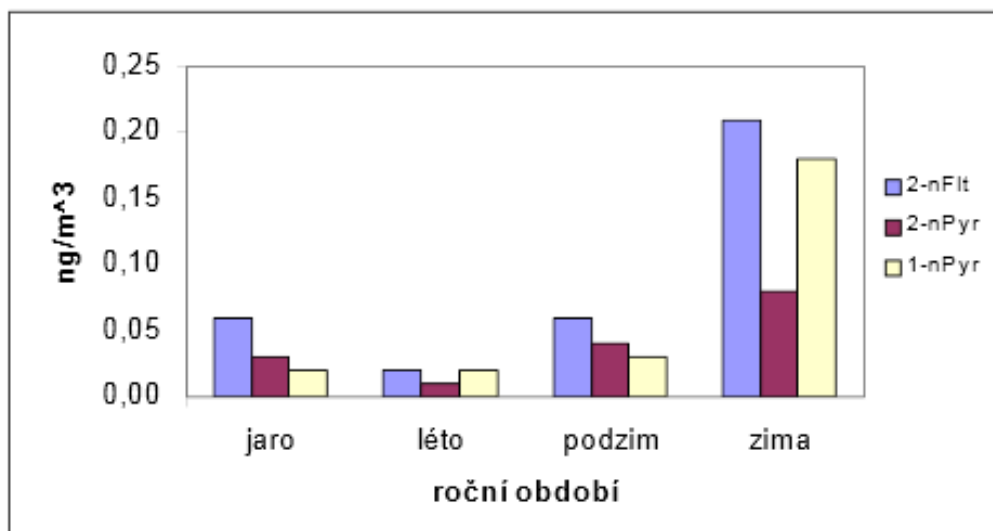
Samozřejmě platí, že k nitraci může docházet ve více krocích. Například nitropyren může reagovat s další molekulou NO_2 a opět dochází k nitraci 1-nitropyrenu podle následujícího schématu [16, 29].



Obr.č. 10: Následná nitrace 1-nitropyren [29]

3.3.3. Stav znečištění prostředí nitroderiváty

Jak již bylo zmíněno výše, nitroderiváty se převážně vyskytují v ovzduší v koncentracích o několik řádů nižších než mateřské PAH. V roce 1996 byl proveden monitoring nitroderivátů PAH v Athénách. Z grafu č. 11 je patrné, že k nárůstům koncentrací nitroderivátů dochází zejména v zimním období. Hlavním důvodem je to, že v těchto měsících jsou zhoršené rozptylové podmínky a navíc se významně projevuje i vliv lokálních topenišť v zimním období [18].



Obr. č. 11: Roční měření některých nitroderivátů a jejich koncentrací v Athénách roku 1996 [18]

Podobné monitorizační studie byly zpracovány na více lokalitách ve světě. V následující tabulce je prezentováno několik lokalit v EU, kde byly v ovzduší identifikovány vybrané nitroderiváty.

Tabulka č. 5: Monitoring nitroderivátů v EU (koncentrace v $\text{pg} \cdot \text{m}^3$) [17]

	Baltimore	FortMeade	Copenhagen	Riso	Bratislava
1-nitronaftalen	59	23	-	-	82
2-nitronaftalen	39	24	-	-	94
9-nitroanthracen	64	46	63	30	44
2-nitrofluoranthén	60	49	91	60	11
3-nitrofluoranthén	0,49	0,31	39	32	73
1-nitopyren	27	20	127	30	10
2-nitopyren	6,5	4	20	8	-
7-nitroBaP	23	12	-	-	10
6-nitrochrysen	0,42	0,40	-	-	6,8
6-nitroBaP	1,7	4,1	-	-	3,1

Podobný monitoring probíhal v letech 1996-1998 i na našem území, a to v okolí Teplic. Jako referenční oblast byla monitorována oblast Prachatic. Z hodnot uvedených v tabulce je rovněž v tomto případě patrný vliv ročního období. Nejvyšší koncentrace byly naměřeny u semivolatilních látek [17, 27].

Tabulka č. 5: Monitoring nitroderivátů v letech 1996 - 1998 (koncentrace v $\text{ng} \cdot \text{m}^3$) [17, 27]

	Počet vzorků	1-nNap	2-nNap	9-nAnt	1-nPyr	2+3nFlt
TEPLICE						
zima 96	3	0,42	0,25	0,28	n.d.	-
léto 96	8	0,11	0,12	0,09	n.d.	-
zima 96-97	7	0,24	0,29	0,26	0,05	0,50
léto 97	6	0,13	0,11	0,03	n.d.	n.d.
zima 97-98	8	0,16	0,17	0,07	0,05	0,10
léto 98	7	0,09	1,09	0,02	n.d.	n.d.
zima 98	4	0,18	0,16	0,07	n.d.	0,11
zima 96	3	0,12	0,18	0,10	n.d.	-
léto 96	8	0,06	0,06	n.d.	n.d.	-
zima 96-97	7	0,10	0,10	0,04	n.d.	n.d.
léto 97	8	0,04	0,03	n.d.	n.d.	0,01
zima 97-98	7	0,08	0,05	n.d.	n.d.	n.d.
léto 98	7	0,03	0,03	n.d.	n.d.	n.d.
zima 98	5	0,03	0,03	n.d.	n.d.	n.d.

3.3.4. Toxikologické vlastnosti nitroderivátů a jejich metabolismus

Metabolismus nitroderivátů závisí především na vstupu do organismu. Při orálním vstupu nitroderivátů do organismu se deriváty dostávají do plicních sklípků, kde dochází k jejich metabolizaci na mutagenní produkty; ze sklípků se dále dostávají krevním řečištěm až do jater. Už v plicních sklípcích dochází k metabolizaci nitroderivátů na hydroxyl-nitroderiváty, přičemž zbylé nitroderiváty jsou později metabolizovány v játrech. Játra sice mají určitou čistící schopnost, avšak vlivem kyseliny glukoronové dochází ke vzniku glukoronových konjugátů, které jsou později štěpeny ve střevech působením enzymů. Následně opět dochází ke vzniku hydroxyl-nitroderivátů, které mohou způsobovat rakovinu střeva [18, 19].

Metabolismus nitroderivátů pochopitelně zahrnuje větší počet reakcí. Bylo prokázáno, že může docházet k nitroredukci, esterifikaci a oxidaci benzenového kruhu. Nitroredukce probíhá například ve střevech při orálním vstupu nitroderivátů do organismu. Po jejich vstupu do organismu dochází k metabolické nitroredukci a ke vzniku příslušných aminoderivátů. Při orálním vstupu těchto kontaminantů je většina nitroderivátů vyloučena z těla do 48 hodin [18,19].

3.4. Alkyl-deriváty PAH

3.4.1. Základní charakteristika

Alkyl deriváty jsou důležitými substitučními deriváty podílejícími se na znečištění PAH. Z dostupné literatury není známo, že by byla tato skupina derivátů systematicky sledována. Jejich vlastnosti jsou prakticky totožné s mateřskými PAH, neboť alkylovaný řetězec nemá příliš velký vliv na změnu fyzikálně chemických vlastností těchto sloučenin.

Alkylované deriváty však setrvávají v prostředí delší dobu než mateřské PAH [2].

3.4.2. Zdroje a vznik alkyl-derivátů

Hlavním zdrojem znečištění alkyl deriváty PAH jsou emise pocházející z dieselových motorů. Ty jsou totiž již přítomny v palivu, kde zastupují největší podíl aromatických látek. Palivová směs obsahuje hlavně methyl- a ethyl- deriváty naftalenu, fenanthrenu afluorenu.

Jak vyplývá ze studie P. J. Tancella, předpokládá se, že existují 2 druhy jejich vzniku, a to petrogenní a pyrogenní. Alkylované deriváty vznikají při nízkých teplotách v rozmezí 100 - 150 °C, nejsou tak termodynamicky stabilní jako jejich mateřské sloučeniny, a proto jejich množství při spalovacích procesech za vyšších teplot není tak velké. Hojnější je výskyt v ropě, která vzniká za nižších teplot organickou syntézou. Na základě poměru alkyl PAH a mateřských PAH lze pak určit druh znečištění, který je charakteristický pro danou oblast [20]. Na posouzení hodnot koncentrací alkyl-derivátů PAH, a to z hlediska rozdílů mezi petrogenním a pyrogenním původem, byla zaměřena studie M. Saha et al. V této studii byla posuzována jak kontaminace sedimentů pocházejících ze 174 lokalit, tak také vliv energetického průmyslu na jejich výskyt. Ze studie vyplynulo, že v Indii, kde se více využívá spalování dřeva a uhlí na výrobu energie (až 74 % spotřeby energie) a v menší míře se využívá ropy a jejich produktů (17 % spotřeby energie), byly v sedimentech detekovány spíše alkylované deriváty s pyrogenním charakterem, zatímco v zemích tropické Asie (jako je Malajsie a Filipíny), kde se ropa a její produkty využívají 3krát více, byly v sedimentech identifikovány spíše alkylované deriváty petrogenního původu [24].

Další studie byla zaměřena spíše na alkylované deriváty pocházející z jednotlivých zdrojů a na metody jejich stanovení. Jednalo se o studii E. Lehnorffa, která byla zaměřena na možnost stanovení fenanthrenu ve vzorcích odebraných z městského ovzduší [25].

3.4.3. Toxikologické vlastnosti alkyl PAH

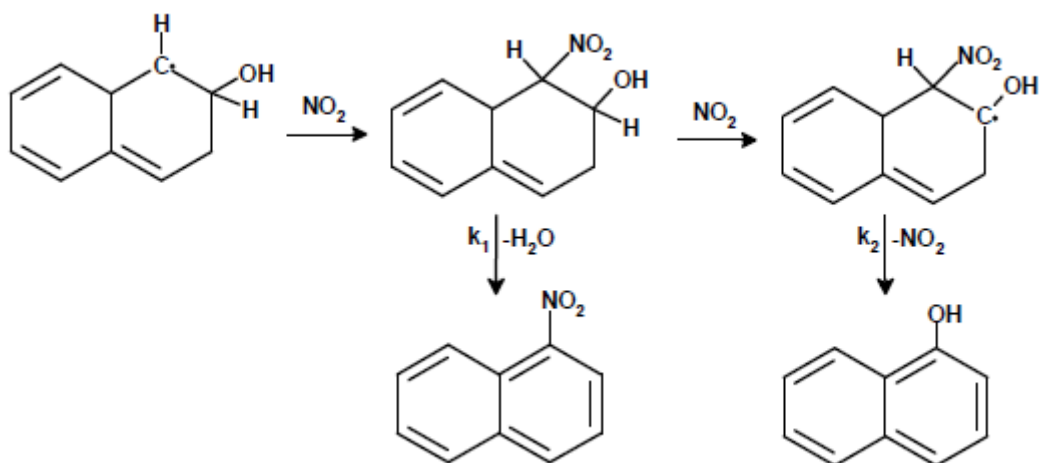
Toxikologické vlastnosti alkylovaných derivátů jsou prakticky totožné s vlastnostmi mateřských PAH. Největší vliv mají jejich vlastnosti, které jsou posuzovány převážně při ropných haváriích. Bylo prokázáno, že alkylované deriváty setrvávají v životním prostředí delší dobu. Kromě toho jsou méně rozpustné ve vodě. Ve studii R. J. Irwina bylo uvedeno, že toxicita jednotlivých alkyl- derivátů PAH je ovlivněna hlavně substitucí alkylovaného zbytku na aromatickém jádře. Pomocí testů prováděných na *Palaemonetes pugio* a *Penaeus aztecus* bylo prokázáno, že toxicita 1-methylnaftalenu je menší než toxicita 2-methylnaftalenu [21].

3.5. Oxy- a hydroxy- deriváty PAH

Oba specifikované deriváty PAH se dostávají do složek životního prostředí jako ostatní PAH, tj. spalováním fosilních paliv, případně z emisí výfukových zplodin. Rovněž byla prokázána vysoká schopnost sorpce těchto derivátů na polévatý prach a jejich následná distribuce do životního prostředí. Hydroxy- deriváty nebyly dosud jako kontaminanty složek životního prostředí často zjišťovány, i když již byla prokázána jejich karcinogenita a mutagenita. Zajímavou studií zpracovanou na toto téma byla studie Wanga, která pochází z Číny [22]. Z této studie vyplynulo, že koncentrace hydroxy- PAH je vesměs o 3 řády nižší, než koncentrace mateřských PAH. Hydroxy- PAH byly ve vyšších koncentracích stanoveny především v zimním období, což pravděpodobně vyplývá ze zvýšených koncentrací prekurzorů v tomto ročním období, které souvisí nejen s vyššími emisemi a povětrnostními podmínkami, ale také s nestabilitou těchto derivátů v letním období, kdy se projevuje vyšší teplota [22].

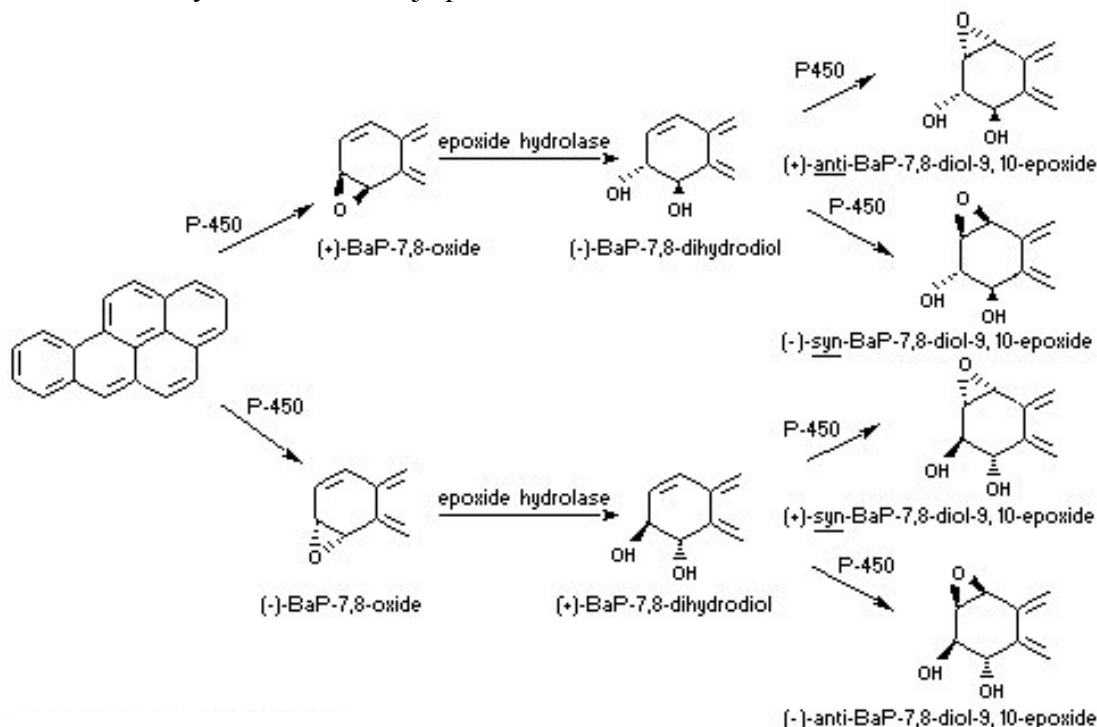
Naopak problematika oxy- derivátů PAH byla publikována ve větším počtu studií. Ze všech lze uvést podrobnou publikaci pocházející z francouzského Marseille [14].

Bylo prokázáno, že ke vzniku hydroxy- PAH může dojít také prostřednictvím reakcí jednotlivých mateřských PAH v atmosféře, kde může docházet k následným reakcím mateřských PAH s hydroxylovým radikálem, NO₃ radikálem nebo ozonem, a to právě za vzniku hydroxyderivátů (obrázek č. 12) [23].



Obr.č.12: Schéma působení radikálu dusíku na vznik nitroderivátů a hydroxyderivátů PAH[23]

Oxy- a hydroxy- deriváty PAH mohou podléhat i metabolickým přeměnám, případně mohou vznikat z mateřských PAH metabolickou přeměnou za působení cytochromu P 450. Tyto metabolity jsou potom schopny napadat proteiny nebo DNA a takto vyvolat vážné genotoxické účinky. Průběh reakce je prezentován na obrázku č. 13.



Obr.č.13: Metabolická přeměna BaP za působení cytochromu P450[42]

4. POSTUP IZOLACE ANALYTŮ A PŘÍPRAVY VZORKU PRO STANOVENÍ PAH

Preanalytické i analytické metody aplikované ve stopové analýze kontaminantů probíhají obvykle v několika krocích. Prvním krokem je vzorkování jednotlivých matric, poté následuje izolace PAH z jednotlivých matric, následně zakoncentrování izolovaných PAH a jejich finální stanovení. Metody se převážně volí podle povahy vzorkované matrice, dále podle požadavků na výsledek analýzy a v neposlední řadě také podle vybavení laboratoře.

4.1. Vzorkování PAH z environmentálních matric

Vzhledem k tomu, že v atmosféře je většina PAH sorbována na povrchu tuhých částic, zaměřuje se odběr vzorku především na zachycení těchto částic. Důležité je to zejména z hlediska toxikologického, protože právě tyto částice nejvíce ovlivňují zdraví člověka a obsahují nejvyšší koncentrace PAH. Proto se vzorkování provádí tzv. aspiračními metodami. Při těchto metodách dochází k prosávání vzduchu přes skelná vlákna, kde dochází k zachycení částic. Odběry se upřednostňují spíše krátkodobé, při kterých nejsou PAH vystavovány následným vlivům NO_2 , O_3 atd. a také se nepředpokládá, že by mohlo docházet k desorpci. Využívá se hlavně impaktorů, kde dochází k rozdělení podle velikosti částic. Tento způsob umožňuje to přesný odhad, jaká je distribuce PAH v závislosti na velikosti částic a také je možné posoudit toxikologické hledisko, zejména ve vztahu k nejjemnější frakci $\text{PM}_{2,5}$, která se může dostávat až do plicních sklípků. Dále se při vzorkování musí zohledňovat fakt, že část 2-4 jaderných PAH se nachází v plynné fázi. Sorpce plynných PAH může probíhat na sorpční kolonce naplněné polymerními sorbenty. Nejčastěji využívanými sorbenty jsou Amberlite XAD-2, Propak PS nebo Tenax GC. Kromě toho se také používají válce z polyuretanové pěny (PUF) o hustotě asi $0,02 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-1}$. Po odběru vzorku je samozřejmě nutné vypracovat podrobný protokol ze vzorkování. Ten musí obsahovat jak množství prosátého vzduchu, tak také meteorologické podmínky, které panovaly po čas odběru (rychlost a směr větru, atmosférický tlak, teplota, intenzita slunečního svitu, srážky a výška sondy nad terénem). Po skončení odběru je nutno zabezpečit vzorek proti fotolýze. Toto opatření se nejčastěji realizuje zabalením do hliníkové folie. Rovněž je nezbytné vzorek uzavřít do vzduchotěsných obalů, aby bylo zabráněno dalším degradacím PAH. Současně s exponovanými filtry je nutno uchovat i filtry neexponované. Ty nám následně slouží ke slepému pokusu. Zachycené PAH se potom dělí do skupin dle způsobu vzorkování. Například těkavé PAH jsou zachyceny převážně na PUF nebo na vhodný sorbent (naftalen, bifenyl, acenaften, atd.), další skupinou jsou PAH, které jsou z části zachycené na prachových částicích a na PUF, případně na sorbentu (fluoranthén, pyren). Poslední skupinou jsou PAH sorbované na prachových částicích na filtru (BaP, BaA) [17, 26, 27, 30].

Dalšími možnostmi vzorkování ovzduší pro stanovení PAH i substituovaných PAH jsou tzv. Tedlar vaky nebo odběrových kanystry.



Obr.č. 14: Velkoobjemové zařízení pro vzorkování ovzduší (až $1500 \text{ m}^3 \cdot 24 \text{ hod.}$) [17]

Při odběrech vzorků vod se vesměs využívá manuální odběr. Vzorky vod jsou odebírány podle potřeby, vždy do tmavých láhví, aby byla omezena fotodegradace PAH. Vzorky vody musejí být zpracovány v laboratoři do 24 hodin a musí být uchovávány v chladnici při teplotě maximálně 4°C . Také se doporučuje používat láhve se silanizovaným povrchem, protože sorpcí na stěny nádoby je možno očekávat až 40 % ztrát [7].

Odběry půdy probíhají klasickým způsobem za použití Edlemannova vrtáku nebo odběrových sond. Poté dochází k homogenizaci vzorku půdy a jeho následné úpravě kvartací; laboratorní vzorek by měl mít hmotnost cca 1 kg. Půda musí být následně vysušena a stanovena u ní sušina. Při sušení se musí brát ohled na těkavější analyty.

Kromě již zmíněných možností pro vzorkování ovzduší existují také tzv. pasivní vzorkovače. Těch je využíváno především pro dlouhodobý monitoring. Jejich principem je proudění vzduchu okolo sorbentu, na kterém dochází k zachytávání polutantů. Tento děj trvá buď do doby dosažení rovnovážné koncentrace mezi vzorkovaným médiem, případně do doby přerušení vzorkování operátorem. Pro vzorkování PAH se nejčastěji využívá metody SPMD (Semipermeable Membrane Device). Jedná se o ploché trubice plněné polyethylenem s nízkou hustotou (LDPE - low density polyethylene). Trubice je naplněna 1 ml trioleinu o minimální čistotě 95 %. Organické polutanty difundují přes polopropustnou membránu, kde dochází k jejich zachytu ve vrstvě trioleinu, kde se zakoncentrovávají. K následné izolaci polutantů z pasivních vzorkovačů se využívá dialýzy v prostředí nepolárních rozpouštědel (n-hexan, pentan). Získané extrakty se potom zpracovávají běžnými analytickými metodami. Největší výhodou pasivních vzorkovačů je jejich univerzálnost. Pomocí SPMD lze vzorkovat

veškeré environmentální matrice. Navíc jsou tyto vzorkovače jednoduché, nenáročné na energii a je s nimi snadná manipulace [17, 26, 27, 28, 30].



Obr.č.15: SPMD zařízení pro pasivní vzorkování ovzduší[17]

Další možností při hodnocení úrovně kontaminace je využití tzv. bioindikátorů. V případě PAH jsou nejčastěji používány rostliny tzv. vyššího patra. Listy rostlin, jehličí a rostlinná pletiva slouží jako pasivní vzorkovače při analýze ovzduší. Nálezy PAH však výrazně ovlivňuje jejich morfologie, okolní podmínky, doba vegetace, velikost povrchu, apod. V literatuře bylo prezentováno, že například ve studii Douceho [31] byla jako pasivní vzorkovač využita kůra stromů. Ze studie rovněž vyplývá, že vyšší koncentrace nitro- PAH byly stanoveny v zimě, což mohlo být způsobeno vyšším vlivem lokálních topenišť, vyšší kondenzací nitro- PAH v zimním období, a to z důvodu nižších teplot i potlačení fotodegradace v důsledku nižšího slunečního svitu. Jako vhodný bioindikátor se osvědčil zejména smrk ztepilý. Povrchový vosk jehličí totiž dobře zachytává zejména PAH přítomné v parní fázi [17, 26, 27, 28].

4.2. Izolace PAH z environmentálních matric

Izolační metody aplikované v environmentální analýze slouží k přípravě vzorku pro finální analýzu. Metody izolace analytu jsou závislé na povaze vzorku a na tom, zda je analyt zachycen na prachových částicích, na sorbentu nebo zda je přítomen přímo ve vodné fázi nebo v půdě. Při posouzení všech těchto ukazatelů se následně zvolí metoda, která je optimální pro úpravu vzorku.

Nejčastěji používané metody pro izolaci analytů ze vzorku jsou extrakce. Extrakce může představovat izolační, čistící i dělicí proces, při které přechází složka ze směsi látek v kapalně nebo tuhé fázi do jiné kapalně fáze, tj. rozpouštědla.

4.2.1. Extrakce v Soxhletově přístroji

Tato metoda slouží k extrakci analytů z tuhých matric vhodnými rozpouštědly. Nejčastěji se jako extrakční činidlo využívá benzen nebo toluen, popřípadě jejich směsi s ethanolem nebo isopropanolem. S rostoucí polaritou rozpouštědla dochází ke zvyšování výtěžnosti extrakce, avšak současně roste i podíl balastních látek. Extrakce v Soxhletově přístroji probíhá horkým rozpouštědlem s teplotou blízkou bodu varu, což může být problém pro teplotně labilní látky. Vzhledem k fotolabilitě PAH je rovněž doporučeno zamezit přístupu světla k extraktoru. Nejpoužívanějším a osvědčeným způsobem je zabalení přístroje do hliníkové folie. Největší nevýhodou tohoto typu extrakce je její časová náročnost i náročnost na spotřebu rozpouštědel. Doba tohoto typu extrakce se pohybuje v rozmezí 8 - 24 hodin, o čemž rozhoduje také to, zda jsou sledované analyty přítomné v triacylglycerolech nebo také ve fosfolipidech. Novější verzi Soxhletova přístroje je přístroj zvaný Soxtec firmy Tecator nebo Büchi.

Tento typ extrakce byl aplikován pro izolaci nitroderivátů. X. Jinhui, který tuto extrakci použil, zvolil jako optimální extrakční činidlo dichlormetan (DCM); doba extrakce byla 20 hodin [28].

4.2.2. Extrakce rozpouštědlem za zvýšeného tlaku (PSE)

Při této extrakci dochází k využívání vyšších teplot (do 200 °C) a vyšších tlaků (5 - 20 MPa). Výhodou této metody je to, že zvýšením teploty dochází ke zlepšení extrakční kinetiky a zvýšený tlak udržuje rozpouštědlo pod bodem varu. Vysoká teplota má také za následek snížení viskozity rozpouštědla a zvyšuje rozpustnost analytu a propustnost hmoty. Vysoký tlak navíc pomáhá rozpouštědлу dostat se do těsnějšího kontaktu s maticí a tím zvýšit extrakční účinnost. Při aplikaci této metody je velice důležitá volba rozpouštědla. To musí být vybráno nejen vzhledem k povaze analytu, který musí být extrahován, avšak mělo by být také zaručeno, aby nebyly současně izolovány koextrakty a znečišťující látky. Během optimalizace této metody jsou posuzovány následující parametry: teplota, tlak, rozpouštědlo, doba zdržení, dále počet cyklů a oplach, prováděný buď plynem (dusík) nebo extrakčním činidlem. Extrakt je obvykle jímán přes septum do vialky a následně odpařen do sucha na rotační vakuové odparce a dále přečištěn [32, 34].

Ve studii Pryčka bylo využíváno právě tohoto typu extrakce. Jako extrakční činidlo byl použit DCM a extrakce probíhala při 100 °C a tlaku 140 bar, což odpovídá hodnotě 14 MPa [33].

4.2.3. Extrakce pomocí ultrazvuku (USE)

Při tomto typu extrakce dochází za pomoci ultrazvuku k intenzivnějšímu pohybu analyzované matrice, přičemž dochází k rozpadu shluku částic. Hlavní výhodou tohoto typu extrakce je snížení doby extrakce na 15 - 30 min. Analyzovaný vzorek je kvantitativně přenesen do baňky, převrstven rozpouštědlem a ponořen do ultrazvukové lázně. Hladina vody v lázni by měla být ve stejné výšce jako hladina extrakčního činidla, což umožní maximální účinnost této extrakce. Důležitým faktorem je pochopitelně také volba rozpouštědla [7, 35].

Volbou vhodného rozpouštědla při aplikaci této metody se zabýval Lintelmann, který porovnával účinnost ethylacetátu se směsí methanol-toluen, při extrakci benzo[a]pyrethroidů. Ve své studii publikoval, že účinnost ethylacetátu je vyšší v porovnání se směsí methanol-

toluen[36]. Důležitá je také volba teploty, zejména pro látky tepelně labilní, protože by mohlo docházet k rozkladu těchto látek.

Tento typ extrakce využili ve své studii rovněž Castro a Lopez, kteří pomocí USE izolovali NPAH z půdy. Jako extrakční činidlo byl použit DCM. Postup extrakce byl následující: byly odváženy 4 g půdy, poté bylo přidáno 8 ml DCM a baňka s touto směsí byla ponořena do ultrazvukové lázně o teplotě 20 °C na 10 min [35].

4.2.4. Extrakce kapalina-kapalina (LLE)

Je známo, že polutanty mohou být ve vodné fázi rozpuštěny, emulgovány nebo suspendovány. Jedná se v podstatě o separační techniku založenou na rovnovážné distribuci částic mezi 2 vzájemně nemísitelné fáze. Nejčastějším postupem je extrakce z vody do organického rozpouštědla. Organické rozpouštědlo samozřejmě nesmí být s vodou mísitelné. Obecně lze říci, že se jedná o extrakci z polárnějšího rozpouštědla do méně polárního. Pro extrakci kapalina - kapalina existují 2 základní způsoby:

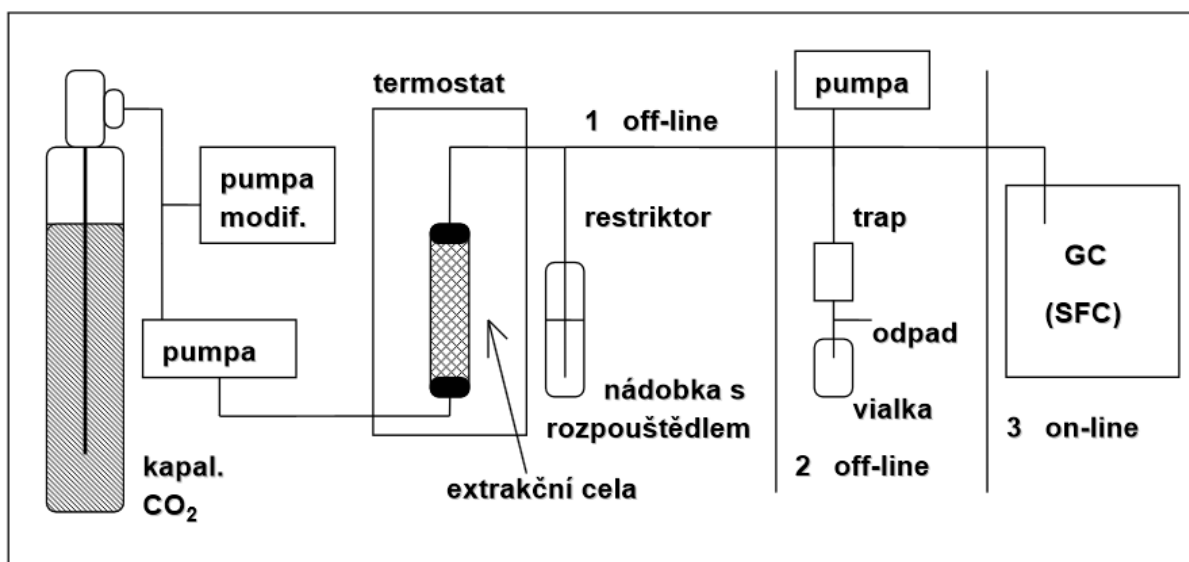
- Diskontinuální (vytřepávání) - používá se v případě, pokud lze snadno dosáhnout rozdělovacího koeficientu látky. Vytřepávání probíhá v několika krocích a využívá se při něm dělicích nádob. Většinou stačí 3 kroky a dochází k izolaci analytu z matrice až z 99 %.
- Kontinuální - metoda, při které rozpouštědlo neustále cirkuluje přes vodnou fázi, hromadí se v oddělené baňce, kde se odpařuje a po kondenzaci opět přechází přes vodnou fázi. Analyt se hromadí v destilačním zbytku. Největší výhodou tohoto postupu je automatický provoz tohoto typu extrakce, který může probíhat až několik dní bez obsluhy [7, 37].

4.2.5. Superkritická fluidní extrakce

Jedná se o metodu vhodnou pro izolaci organických polutantů ze sazí, popílku a půd. Předností tekutiny v nadkritickém stavu jsou především její vlastnosti, kdy má vlastnosti velmi hustého plynu. Má nízkou viskozitu a vysokou hodnotu difuzních koeficientů, které mají zásadní vliv na kinetiku extrakce. K extrakci se nejčastěji používá oxid uhličitý, který má rozpouštěcí schopnosti podobné jako hexan, avšak má mnohem menší viskozitu, což výrazně zlepšuje jeho prostup přes hmotu a zvyšuje účinnost extrakce. Oxid uhličitý se také často modifikuje přidávkou methanolu pro extrakci polárních látek [7, 39].

Dobré výsledky pomocí metody SFE, aplikované pro izolaci PAH, byly dosaženy za použití freonu 22, při teplotě 100 °C a tlaku 11 MPa. Jen o málo horší výsledky poskytl oxid uhličitý modifikovaný 5 % methanolu, při teplotě 70 °C a tlaku 40 MPa [7].

SFE pro analýzu derivátů PAH využil i Castells ve své studii, kdy využil CO₂ modifikovaný toluenem [38].



Obr.č.16: Schéma SFE[39]

4.3. Zakoncentrování a přečištění PAH

Po samotné extrakci se ve vzorku nachází ještě mnoho balastních látek, které je před finální analýzou nutno z extraktu odstranit. K odstranění těchto látek se nejčastěji využívá kolonová nebo gelová permeační chromatografie (GPC).

Kolonová chromatografie je v podstatě separační proces založený na rozdělování sloučenin mezi 2 vzájemně nemísitelné fáze, mobilní (pohyblivá) a stacionární (nepohyblivá). Vzorek je nanesen na začátek stacionární fáze, poté je přidána do kolony mobilní fáze, která unáší vzorek přes stacionární fázi, kde dochází k záchytu analytů. Složky vzorku, které jsou stacionární fází poutány nejméně, projdou kolonou nejdříve, ty nejvíce poutané procházejí poslední. Nejčastěji využívanými postupy pro čištění extraktu jsou právě kolonová (sloupcová) chromatografie a GPC, kde se pro přečištění extraktu, který obsahuje izolované PAH, používá gel Bio Beads S3 [7].

4.3.1. Kolonová chromatografie

Principem separace analytů je jejich rozdílná afinita k mobilní a stacionární fázi. Separace látek je závislá na rovnováze, která se ustaluje na rozhraní mobilní a stacionární fáze. Dalším důležitým faktorem je rozpustnost analytu v mobilní fázi. Molekuly rozpouštědla a rozpuštěné látky se dostávají do styku se stacionární fází, dochází k jejich zadržování a následnému přestupu do mobilní fáze. Po desorbci mají analyty stejnou rychlost jako mobilní fáze, takže o úspěšné separaci rozhoduje jejich zdržení na stacionární fázi. Velmi důležitá je volba mobilní fáze, zejména pro frakcionaci analytů. Vlastnosti mobilní fáze nám ovlivňují selektivitu, rozlišovací schopnost a rychlost pohybu analytu.

Jako mobilní fáze jsou většinou používána běžná organická rozpouštědla, popřípadě jejich směsi [7, 40].

Vlastnosti jednotlivých adsorbentů závisí hlavně na jejich specifickém povrchu, chemickém složení a funkčních skupinách.

Mezi nejběžněji používané sorbenty patří:

- Silikagel - Je obecně nejrozšířenější sorbent. Jedná se o modifikovaný oxid křemičitý. Velikost pórů u silikagelu se pohybuje okolo 10 nm a specifický povrch je v rozmezí 100 - 500 m²·g⁻¹. Povrch silikagelu je pokryt hydroxylovými skupinami, které tvoří vodíkové můstky. Vyznačuje se mírnou kyselostí, takže zadržuje spíše bazické látky. Silikagel na vzduchu nasává vlhkost, proto je nutné silikagel před použitím aktivovat. Nejčastěji bývá aktivován po dobu 2 - 3 hodin při teplotě 200 °C. Vzhledem k jeho kyselosti může silikagel vystupovat i jako iontoměnič.
- Alumina - Jedná se o oxid hlinitý, který po aktivaci tvoří vodíkové můstky. Specifický povrch se pohybuje v rozmezí 100 - 250 m²·g⁻¹.
- Florisil - Jedná se v podstatě o křemičitan hořečnatý. Jeho vlastnosti jsou velice podobné právě výše zmíněné alumině [40,41].

4.3.2. Gelová permeační chromatografie (GPC)

Při GPC dochází k dělení molekul na základě jejich velikosti. Při čištění extraktu obsahujícího PAH se využívá slabé interakce PAH se skeletem gelu. Právě díky těmto interakcím jsou PAH eluovány až za pracovní oblastí gelu, zatímco ostatní látky jsou eluovány dříve. Často je používán Sephadex LH-20 (dextrovaný gel zesíťovaný epichlorhydrinem) eluovaný 2-propanolem, případně styren - divinylbenzenové gely s tetrahydrogenfuranem (THF) nebo benzenem jako mobilní fází [7].

4.3.3. Přechištění extraktu

K přechištění extraktu může být použita i postupná extrakce roztokem kyseliny a zásady. Tímto postupem je ze vzorku možno odstranit bazické a kyselé podíly, které je poté možno samostatně analyzovat. Polární látky se dají částečně odstranit extrakcí mezi nepolární rozpouštědla jakými jsou cyklohexan nebo pentan. Při přechištění PAH se využívá hlavně schopnosti N,N - dimethylformamidu rozpouštět aromatické uhlovodíky. Roztok PAH v cyklohexanu (30 ml) se vytřepe do 60 ml směsi dimethylformamidu s vodou, smíchaných v poměru 9:1; po oddělení vrstev se extrakce opakuje. Spojené extrakty se naředí vodou a vytřepávají s cyklohexanem. Spodní vodná vrstva se vypustí a cyklohexanový roztok PAH se ještě dvakrát vytřepe vodou a odpaří dosucha [7].

5. ANALYTICKÉ STANOVENÍ PAH

Pro stanovení PAH jsou nejčastěji využívány separační postupy, a to buď metody plynové chromatografie ve spojení s hmotnostně spektrometrickou detekcí nebo kapalinové chromatografie se spektrofluorimetrickou detekcí. Ostatní metody stanovení jsou využívány pouze výjimečně [43].

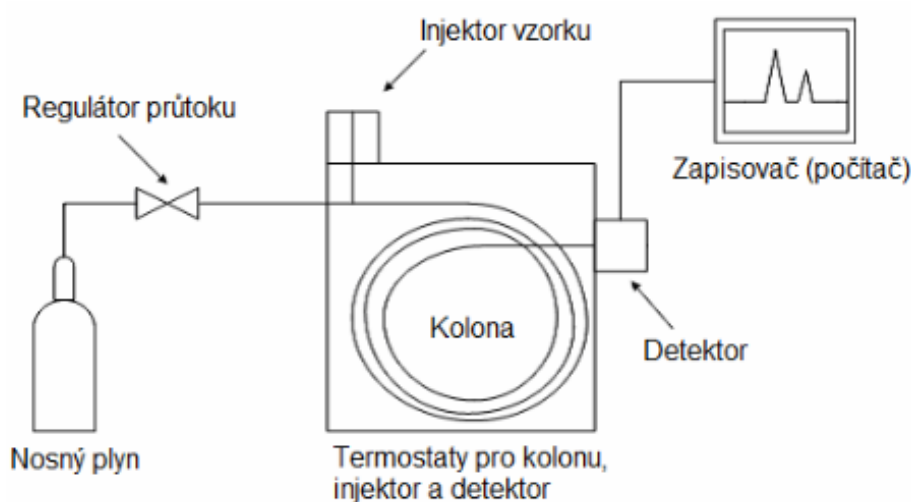
5.1. Plynová chromatografie

Plynová chromatografie je v dnešní době prakticky dominantní metodou pro stanovení PAH izolovaných z environmentálních matric. Její obrovskou výhodou v porovnání s kapalinovou chromatografií jsou lepší meze detekce, selektivita a citlivost.

Plynová chromatografie využívá hlavně slabých interakcí analytu se stacionární fází. Jediným limitujícím faktorem jsou vysoké body varu těchto látek, a proto je tato metoda omezena na PAH s maximálně 7 aromatickými jádry. Principem je rozdělování složek mezi 2 vzájemně nemísitelné fáze, mobilní a stacionární. Jako mobilní fáze se v GC využívá inertní plyn [7, 43, 45].

Podle stacionární fáze lze GC rozdělit na 2 typy:

- Absorpční plynovou chromatografii, kde je stacionární fází adsorbent a distribuce mezi oběma fázemi je založena na adsorbci [7].
- Rozdělovací plynovou chromatografii, kdy je stacionární fází netěkavá kapalina, která je zakotvena na inertním nosiči (nejčastěji různé druhy křemelin s chemicky upraveným povrchem částic pro snížení aktivity). Jako kapalná fáze jsou nejčastěji využívány polysiloxany, polyethylenglykoly nebo polyestery. Distribuce je založena na rozpouštění [7, 45].



Obr. č. 17: Schéma plynového chromatografu[43]

5.1.1. Nosný plyn

V plynové chromatografii se jako mobilní fáze používá tzv. "nosný plyn", který slouží k transportu vzorku kolonou. Nosný plyn musí být inertní, aby nedocházelo k reakcím s analytem nebo se stacionární fází. Nejčastěji se využívá helium, dusík, vodík nebo argon. Při výběru nosného plynu se zohledňuje především účinnost, čistota, typ detektoru a cena plynu [43].

5.1.2. Regulátor tlaku a průtoku

Jedná se o elektronické regulační zařízení, které ovládá průtok a tlak nosného plynu. Bez ohledu na rozměr kolony, typ použitého plynu a teplotu, zajišťuje regulátor konstantní průtok nosného plynu kolonou i detektorem. Tlak se nastavuje automaticky podle vnitřního průměru kolony, její délky a viskozity plynu [43].

5.1.3. Injektory

Injektory slouží k dávkování analyzovaného vzorku do plynového chromatografu. Extrakt ze vzorku je dávkován do proudu nosného plynu, kde dochází k jeho okamžitému odpaření. Do chromatografu je dávkován přes pryžové septum, které odděluje vnitřek injektoru od okolního prostředí. U náplňových kolon lze dávkovat extrakt přímo na kolonu nebo nad ústí kolony, které je umístěné na konci injektoru. U kapilárních kolon existuje více možností nástřiku:

- Dávkování s děličem toku (split injection) - Z důvodu malé kapacity kapilárních kolon a vysoké koncentrace analyzovaných složek dochází k tomu, že část vzorku s nosným plynem je odváděna z injektoru a jen část vzorku (0,1 - 10 %) vstupuje na kolonu a je analyzována; druhá část odchází do ovzduší laboratoře [43, 45].
- Dávkování bez děliče toku (splitless injection) - Před nástřikem dojde k uzavření děliče toku. Vzorek je nastříknut a všechny se pohybuje směrem ke koloně. Toho se využívá především ve stopové analýze [44].
- Dávkování přímo do kolony (on-column injection) - Nedochází k žádnému meziodpaření, využívá se hlavně pro tepelně labilní látky. V environmentální analýze se tento typ nástřiku využívá zejména při stanovení PAH, nitro- PAH, PCB a PCDD [43, 44].
- Dávkování s programovaně zvyšující teplotou vypařování (PTV) - Součástí tohoto typu injektoru je vložka s chromatografickou náplní, která slouží k odstranění rozpouštědla a nízkomolekulárních sloučenin a umožňuje zachytit netěkavé sloučeniny a nečistoty. Další výhodou je rychlý ohřev injektoru, který umožňuje kompaktní vstup vzorku na kolonu [44, 45].

5.1.4. Kolony

V plynové chromatografii se využívají dva základní typy kolon:

- Náplňové - Jedná se o kovové kolony (Al, Cu, Ni) nebo skleněné kolony s vnitřním průměrem 2 - 6 mm a délce 1 - 5 m. Jako nosič pro stacionární fázi se nejčastěji využívá modifikovaná křemelina. Stacionárních fází je velké množství. Používají se fáze o různé

polaritě na bázi siloxanů a polyethylenglykolů, esterů, uhlovodíků, silikonů a dalších. Stacionární fáze musí mít nepatrnou tenzi par při pracovní teplotě, aby nedocházelo k jejímu vypařování během analýzy [45].

- Kapilární (Golayovy) - Kapilární kolony jsou skleněné, křemenné, plastové (polyamidy, polyestery, teflon) nebo kovové. Jejich vnitřní stěny jsou potažené stacionární fází. Vnitřní průměr kapiláry se pohybuje v rozmezí 100 - 700 μm , délka je 15 - 100 m a vrstva stacionární fáze, která je nanesená na vnitřní stěně, je 0,1 - 10 μm . Vyrábějí se také křemenné kapiláry potažené polyimidem, čímž dojde k zlepšení mechanické odolnosti, pružnosti a zamezí se také její oxidaci. Podle uložení stacionární fáze nanesené na vnitřní stěně kapiláry rozlišujeme kolony WCOT (wall-coated open tubular column) s kapalnou stacionární fází, kolony SCOT (support-coated open column) s kapalnou stacionární fází, která je zakotvena na povrchu pevného nosiče na vnitřní stěně kapiláry a kolony PLOT (porous-layer open tubular column), kde je na vnitřní stěně kapiláry uchycen pevný aktivní sorbent [45].

5.1.5. Termostat

Termostat slouží k udržení konstantní teploty pro kolonu, injektor a detektor a tvorbu teplotního programu. Volba optimální teploty závisí na bodu varu jednotlivých složek a potřebném rozlišení[45].

5.1.6. Detektory v plynové chromatografii

Jedná se o zařízení, které reaguje na změnu složení mobilní fáze a tuto změnu převádí na elektricky měřitelné veličiny. Základními posuzovanými vlastnostmi detektoru jsou citlivost, odezva, šum signálu a rychlost odezvy. Pro plynovou chromatografii by měly být voleny detektory s vysokou citlivostí, dobrou stabilitou a reprodukovatelností signálu, nízkým šumem, rychlou odezvou a teplotním rozsahem minimálně 400 °C [45].

- Tepelně vodivostní detektor (TCD) - Univerzální detektor. Nosný plyn proudí přes žhavené odporové vlákno, které se ochlazuje proudem nosného plynu. Vzhledem k různé tepelné vodivosti nosného plynu se separovanými složkami a čistého nosného plynu, dojde ke změně teploty vlákna, změní se i jeho elektrický odpor. Tato změna je poté registrována jako signál. Využívá se i tzv. diferenciálního zapojení, kdy jsou 2 páry vláken spojeny Wheatstonovým mostem, kdy jedno vlákno je obtékáno čistým nosným plynem a jedno eluentem. Při rozdílu mezi vodivostmi pak vzniká proud úměrný obsahu složky v nosném plynu [45].
- Plamenově ionizační detektor (FID) - Jeden z nejoblíbenějších detektorů používaných od roku 1958. Jedná se o univerzální detektor pro analýzu organických sloučenin. Analyt je unášen nosným plynem z kolony a je spalován ve vodíko - vzduchovém plameni, který hoří mezi dvěma elektrodami. Anoda je tvořena kovovou částí těla hořáku, katodou je trubička nebo síťka umístěná nad plamenem. Mezi elektrodami vzniká potenciálový rozdíl. V plameni dochází ke vzniku radikálů $\text{CH}_3\cdot$, $\text{CH}_2\cdot$ a $\text{CH}\cdot$, které přecházejí na ionty. Vzniklé ionty zvyšují vodivost plamene a detektorem probíhá proud úměrný koncentraci organických sloučenin v nosném plynu. Malou citlivost však vykazuje detektor pro sloučeniny uhlíku bez vazeb, ale také na vazby -CO- v ketonech [44, 45].

- Detektor elektronového záchytu (ECD) - Citlivý detektor pro látky obsahující halogeny. Obsahuje měrnou celou, která je vystlána folií z Ni^{63} , což je radioaktivní β -zářič, který emituje elektrony. Principem je, že elektrony emitované Ni^{63} interagují s molekulami nosného plynu, vytváří ionty a proud pomalých elektronů, které vedou proud v měrné cele. Pokud se do detektoru dostane elektroneutrální látka, dojde k pohlcení elektronů a poklesu proudu procházejícího měrnou celou. Tento detektor vykazuje mimořádnou citlivost [50].
- Hmotnostně spektrometrický detektor (MS) - Analyzované látky jsou unášeny do iontového zdroje, kde jsou ionizovány. Ionty se poté separují analyzátozem a detekují detektorem [45].

5.2. Dvojdimenzionální plynová chromatografie GC x GC

Jedná se o techniku, která se hojně používá pro separaci volatilních a semivolatilních sloučenin, protože tato metoda má mnohem větší separační účinnost. Principem této metody je spojení 2 kolon s různými rozměry a odlišnou stacionární fází. Vzorek je separován na primární koloně a posléze na sekundární koloně. Obě kolony jsou spojeny modulátorem. Molekuly z primární kolony jsou zadrženy v modulátoru, který je v časových intervalech (2 - 6 s) dávkuje na sekundární kolonu, kde jsou rychle separovány. Každá sloučenina je poté charakterizována dvěma retenčními časy. Hlavní výhodou proti klasické GC je větší plocha píků, zvýšení poměru signál-šum a získání 2D strukturovaného chromatogramu [46, 47, 48].

5.2.1. Kolony

V GC x GC jsou pro separaci analytu využity 2 kolony s různou selektivitou a velikostí.

- Primární kolona je většinou nepolární s délkou 15 – 30 m, průměrem 0,25 – 0,32 mm a tloušťkou stacionární fáze 0,1 – 1 μm . Separačním mechanismem na primární koloně je bod varu. Jako sorbent se využívá například 100 % polydimethylsiloxan.
- Sekundární kolona je většinou mírně polární nebo polární, většinou kratší s délkou 0,5 – 2 m, průměrem 0,1 mm a tloušťkou stacionární fáze 0,1 μm . Převažuje dělení na základě polarity. Jako sorbent se využívá například 50 % fenyl a 50 % methylpolysiloxan. Doba separace na sekundární koloně je krátká, probíhá v řádu několika sekund [46, 48, 49].

5.2.2. Modulátor

Modulátor je rozhraní mezi dvěma kolonami. Jeho hlavním úkolem je zpomalit analyty mířící z primární kolony do kolony sekundární a zachovat rozdělení z primární kolony [49].

- Ventilový modulátor s dávkovací smyčkou - Eluát z primární kolony naplňuje dávkovací smyčku a v pravidelných intervalech propouští eluát do sekundární kolony. V okamžiku otočení dávkovací smyčky při dávkování na sekundární kolonu byl eluát z primární kolony odfouknut do ovzduší laboratoře. Výhodou je, že na konci primární kolony je atmosférický tlak a na vstupu do sekundární kolony byl tlak zvýšený, což přispělo k zakoncentrování analytu na vstupu do sekundární kolony [49].

- Termální modulátor - Jednalo se o krátkou kapilární kolonu s tlustým filmem stacionární fáze, na kterém docházelo k zachycení analytů; kapilára byla pozlacená a v určitých intervalech byl na tuto kolonu puštěn proud. Kolona se okamžitě zahřála, čímž došlo k desorpci zachycených látek na sekundární kolonu. Potom se kapilára opět ochladila na teplotu termostatu. Hlavní nevýhodou byl záchyt těkavých látek [49].
- Kryogenní modulátor – Je založen na vymrazování látek z proudu nosného plynu. Modulátor byl pohyblivý pouze na části kapilární kolony a byl do něj přiváděn kapalný CO₂. Při pohybu docházelo k periodickému záchytu a uvolňování látek na sekundární kolonu [49].
- Dvoustupňový kryogenní modulátor - Princip stejný jako u jednostupňového modulátoru, avšak místo pohybu po kousku kapilární kolony byl tento modulátor tvořen dvěma tryskami. Při pohybu analytu na kousek kapilární kolony s modulátorem docházelo k tomu, že první tryska mrazila, následně začala mrazit druhá tryska. Látky zachycené na první trysce se posunuly k další, která je zachytávala. Druhá tryska přestala mrazit a analyty postupovaly na sekundární kolonu. Zahřívání po vypnutí mrazící trysky bylo realizováno proudem teplého vzduchu z termostatu, což bylo zároveň jejich nevýhodou, protože zahřívání bylo pomalé [49].
- Dvoustupňový kryogenní modulátor se 4 tryskami - Tento typ modulátoru řešil hlavně problémy zahřívání. Modulátor má vlastní termostat, kde se udržuje vyšší teplota než je teplota v primární koloně. Modulátor je tvořen dvěma páry trysek, které jsou umístěny opět na koloně. Každý pár je tvořen tryskou pro chlazení a pro zahřívání. Jako chladicí medium se v tomto případě využívá plynný dusík, který je ochlazován kapalným dusíkem. Na ohřev se používá proud vzduchu zahřátý na 300 °C. Na začátku separace chladí oba stupně a látky prostupující z primární kolony jsou vymrazovány pod první tryskou. V nastaveném časovém intervalu se zapne ohřívací tryska a látky jsou zachytávány pod druhou tryskou. První stupeň automaticky přechází na chlazení. Ve druhém stupni dojde k zahřátí a analyty postupují na sekundární kolonu, kde dochází k jejich separaci. Po separaci se postup opakuje. Tato metoda zajišťuje kompletní převod eluátů z primární kolony na sekundární, přičemž je zajištěno rozlišení z primární kolony [49].

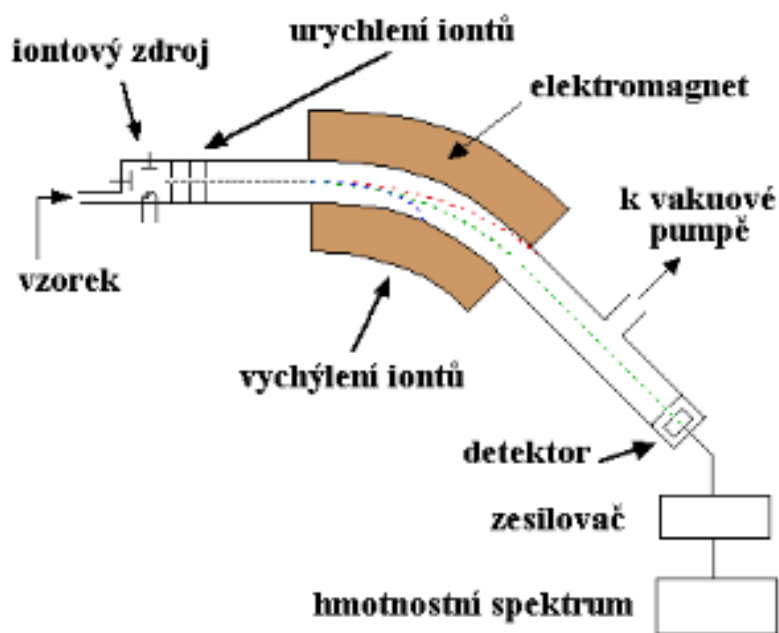
5.2.3. Detektory

Pro detekci v dvojdimenzionální GC je nezbytné volit detektory s rychlým sběrem dat. To je důležité zejména proto, že na sekundární koloně jsou šířky píků v desetinách sekundy. Minimální množství sbíraných dat je 100 bodů za sekundu. Z klasických detektorů je možné volit FID a ECD. Nejvhodnější pro dvojdimenzionální GC je však MS s analyzátozem TOF (time-of-flight), který je schopný sběru až 500 spekter za sekundu [49].

5.3. Hmotnostní spektrometrie (MS)

Jedná se o analytickou metodu, při níž dochází k ionizaci atomů nebo molekul, jejich separaci podle poměru hmotnosti a neseného náboje (m/z) a následné detekci. Spojení MS s GC nebo HPLC je v dnešní době hojně využíváno především v analytické chemii, a to pro kvalitativní i kvantitativní analýzu. Základní součásti hmotnostního spektrometru jsou:

- Iontový zdroj - Slouží k produkci iontů.
- Analyzátor - Separace iontů na základě poměru m/z
- Detektor - Registruje ionty opouštějící analyzátor a převádí je na měřitelný signál.
- Datasystém - Zpracovává signál detektoru a řídí systém.
- Vakuový systém - Zajišťuje vakuum v celém systému [50].



Obr. č. 18: Schéma hmotnostního spektrometru[52]

5.3.1. Iontový zdroj a techniky ionizace

Iontový zdroj je místo, kde z molekuly vzorku vznikají ionty nevratným odštěpením valenčních elektronů. Vznik iontů je nezbytný, protože veškeré informace, které nám poskytuje hmotnostní spektrometr, se týká pouze částic s nábojem. Ionizační techniky se dělí na měkké a tvrdé. Při měkkých ionizačních technikách je předaná energie malá a pravděpodobnost fragmentace primárně vzniklého iontu je malá, zatímco u tvrdých ionizačních technik energie k fragmentaci postačuje [51, 45].

Nejpoužívanější ionizační techniky jsou:

- Elektronová ionizace
- Chemická ionizace
- Elektrosprej
- Chemická ionizace za atmosférického tlaku
- Fotoionizace za atmosférického tlaku
- Indukčně vázané plazma
- Desorpce a ionizace laserem (Matrix assisted laser desorption ionization-MALDI)

Pro spojení GC / MS se nejčastěji využívá elektronová ionizace a chemická ionizace [51].

Elektronová ionizace

Jedná se o ionizaci svazkem urychlených elektronů. Elektrony jsou emitovány žhaveným vláknem (W, Re) a udržovány na záporném potenciálu. Jsou přitahovány protilehlou elektrodou, přičemž získávají, a to díky elektrostatickému poli, kinetickou energii 70 eV. Elektron se při průchodu polem přiblíží k elektronovému obalu neutrální molekuly a vyrazí díky své kinetické energii elektron z obalu. Tím dojde k ionizaci a následné fragmentaci molekuly. Z důvodu reprodukovatelnosti tohoto druhu ionizace je tento postup zdrojem hmotnostních spekter, která jsou při energii 70 eV uspořádána do knihoven spekter. Pro jednotlivou identifikaci vzniklých iontů je velice důležitý tzv. repeller, který je pod konstantním napětí 3 - 4 V a nachází se kolmo k pohybu iontů mezi elektrodami. Repeller posunuje ionty směrem k analyzátoru, takže nedochází k jejich srážkám ani interakcím [45, 51].

Chemická ionizace

Je měkká ionizační technika, která je konstrukčně velmi podobná elektronové ionizaci. Při chemické ionizaci se do iontového zdroje přivádí spolu se vzorkem ještě pomocný plyn (methan, isobutan). Tlak pomocného plynu je vyšší než tlak par vzorku. Za těchto podmínek je proudem elektronů ionizován pomocný plyn. Ionty pomocného plynu potom reagují s molekulami složek vzorku iontově molekulovými reakcemi spojenými s přenosem protonu. Jedná se o měkkou ionizační techniku a proto nelze vytvářet knihovny. Předností je však vznik kvazimolekulárního iontu, což nám umožňuje stanovit molekulovou hmotnost analyzované látky [51, 53].

5.3.2. Analyzátoři v MS

Analyzátoři slouží k separaci iontů na základě poměru m/z . Mohou pracovat ve dvojitým módu, tzv. full scan, kdy dochází ke snímání spekter periodicky v čase nebo v módu SIM (single ion monitoring), ve kterém dochází ke sledování jednoho nebo více iontových druhů v čase.

Na separaci iontů podle poměru m/z je využívána řada fyzikálních principů jako zakřivení dráhy letu v elektrickém a magnetickém poli, oscilace v elektrickém poli vytvářeném kombinací stejnosměrného a střídavého napětí a měření doby letu iontů urychlených na stejnou kinetickou energii [45, 51].

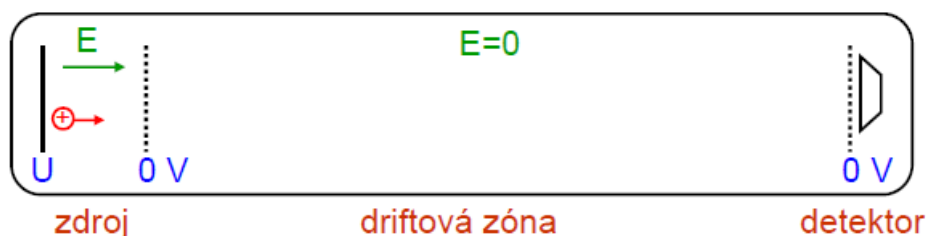
Jednotlivé typy analyzátorů:

- Magnetický analyzátor (B)
- Elektrostatický analyzátor (E)
- Kvadrupólový analyzátor (Q)
- Iontová past (ITD)
- Průletový analyzátor (TOF)
- Iontová cyklotronová rezonance (ICR)
- Sektorový analyzátor s dvojitou fokusací (HRMS)

Analyzátor doby průletu (TOF)

Jedná se o prázdnou evakuovanou trubici. Ionty z iontového zdroje jsou na počátku trubice obdařeny stejnou kinetickou energií z elektrostatického pole. Ionty letí trubicí a separují se na základě doby letu, která je závislá na hmotnosti iontů. Lehčí ionty samozřejmě putují driftovou zónou vyšší rychlostí, zatímco těžší jsou pomalejší a dopadají na detektor později. Záznam signálu v čase se potom převádí na klasické spektrum. Využívá se také tzv.

reflektronu, kdy na konci letové trubice je umístěno elektrostatické zrcadlo, které odráží ionty které dopadají na sekundární detektor. Dojde k prodloužení dráhy a ke zlepšení separace. TOF má teoreticky neomezený rozsah m/z , pracuje v pulzním režimu, je jednoduchý, ale je náročný na elektroniku [45, 51].



Obr. č. 19: Analyzátor TOF [51]

5.3.3. Detektory v MS

Typy používaných detektorů souvisí s celkovou konstrukcí přístrojového zařízení. U většiny je použito Faradayovy cely (kondenzátor) po dopadu iontů na elektrony elektronového násobiče, popřípadě po dopadu elektronu na desku fotonásobiče. U TOF jsou využívány magnetické násobiče, u ICR je detekována změnou elektrických vlastností systému v rezonanci [45].

5.3.4. Vakuový systém

Ionty v MS nesmějí měnit svou energii, zejména nechtěnými srážkami, proto je nutné udržet v MS vakuum. Pro tlaky na úrovni $10^{-3} - 10^{-4}$ Pa jsou používány turbomolekulární vývěvy, pro tlaky nižší obvykle vývěvy difuzní [45].

6. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1. Optimalizace eluce PAH

6.1.1. Laboratorní přístroje a vybavení

- Analytické váhy HR-120, A&D Instruments, Japonsko
- Vakuová odparka BÜCHI, SRN
- Přístroj EVATERM pro sušení pod dusíkem, Labicom, Česká republika
- Elektrická laboratorní pec L05/11 HT 40, LAC, s.r.o. Rajhrad
- Další běžné analytické vybavení laboratoře – kádinky, pipety, vialky, kolony pro sloupcovou chromatografii, odpařovací baňky, stojan

6.1.2. Použité chemikálie

- Isooktan pro GC, MerckKGaA, SRN
- n-Hexan pro kapalinovou chromatografii, MerckKGaA, SRN
- DCM pro organickou residuální analýzu, J. T. Barker, Nizozemí
- Silikagel 60 (0,040 - 0,063 mm), MerckKGaA, SRN
- Petrolether pro analýzy, ACS, MerckKGaA, SRN
- Standard 1 - methylnaftalen, Chironlaboratoriesa.s, Trondheim, Norsko
- Standard 2 - methylnaftalen, Chironlaboratoriesa.s, Trondheim, Norsko
- Standard 1 - ethylnaftalen, Chironlaboratoriesa.s, Trondheim, Norsko
- Standard 2,6 - dimethylnaftalen, Chironlaboratoriesa.s, Trondheim, Norsko
- Standard PAH, Sigma Aldrich, GmbH, SRN
- Standardní půda Lufa (Speyer, Německo)

6.1.3. Postup

Pro optimalizaci eluce sloupcové chromatografie bylo využito silikagelu aktivovaného 2 hodiny při 250 °C. Byla sestavena kolona, která byla naplněna do výšky 10 cm vysokým sloupcem silikagelu. Kolony byly plněny mokrou cestou za použití n-hexanu. Byl připraven roztok standardů alkyl- PAH o $c = 10 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. Do kolony byl pomocí mikropipety dávkován 0,1 ml tohoto roztoku. Následně byla ověřována metoda eluce alkyl- PAH za použití různých elučních činidel a jejich směsí.

Jednotlivá použitá eluční činidla:

- Petrolether : n-hexan 1:4 (40 ml)
- Petrolether : n-hexan 1:1 (40 ml)
- DCM : n-hexan 1:4 (40 ml)
- DCM : n-hexan 1:1 (40 ml)
- DCM : n-hexan 3:1 (15 ml)
- DCM : n-hexan 3:2 (15 ml)
- DCM : n-hexan 1:1 (10 ml)
- DCM : n-hexan 1:1 (15 ml)
- DCM : n-hexan 1:1 (20 ml)
- DCM : n-hexan 1:1 (30 ml)

- Petrolether : n-hexan : DCM 2:4:4 (40 ml)
- Petrolether : n-hexan : DCM 4:2:2 (40 ml)

Po eluci byl vzorek odpařen na rotační vakuové odparce dosucha. Vzorek byl poté rozpuštěn v 1 ml cyklohexanu a stanoven GC-MS.

Stejný postup byl proveden také pro nitro- PAH. Pro eluci nitro- PAH byl jako eluční činidlo použit dichlormethan (DCM), který se osvědčil ve studii Pryčka a kol. [33]. Pro eluci bylo použito různého objemu DCM a bylo určeno jeho optimální množství.

Jednotlivé použité objemy DCM:

- 10 ml DCM
- 15 ml DCM
- 20 ml DCM
- 40 ml DCM
- 60 ml DCM

Po eluci byl vzorek opět odpařen na vakuové rotační odparce, rozpuštěn v 1 ml CH a stanoven na GC-MS.

6.2. Optimalizace přípravy silikagelu

Pro optimalizaci eluce byl použit standard 2 - methylnaftalenu (2 - MN). Tento standard byl nanesen na kolonu a následně probíhala eluce nejúčinnějším elučním činidlem. Postup byl proveden při 3 různých koncentracích 2 - MN a při různě aktivovaném silikagelu a to při 180°C a 220°C.

Každá frakce byla odpařena na vakuové rotační odparce, rozpuštěna v 1 ml cyklohexanu a stanovena na GC-MS.

6.3. Optimalizace extrakce

Pro extrakci byla zvolena metoda PSE, jejíž postup pro aplikaci na půdu byl převzat z práce Pryčka a kol. [33]. V rámci této diplomové práce práci byla metoda optimalizována z hlediska používání různých tlaků pro extrakci a různých teplot. V jeho práci byla optimalizována zejména metoda pro extrakci nitroderivátů, přičemž bylo dosaženo různé výtěžnosti pro různé nitroderiváty. V našem případě byla metoda ověřena pro extrakci alkyl- PAH. Vzorek půdy byl uměle kontaminován 2-MN a byla vypočítána výtěžnost extrakce, která byla stanovena na 79%.

Extrakce byla ověřována také pro stanovení nitro- PAH, avšak po extrakci a následné kolonové chromatografii nebyly při finální analýze nitro- PAH zjištěny. Pravděpodobnou příčinou mohla být jejich nestabilita a také degradabilita za světla. I když byl pokus prováděn v různém uspořádání, nepovedlo se prostřednictvím finální GC-MS nitro- PAH detekovat.



Obr. č. 20: Ukázka přístroje PSE po extrakci reálného vzorku

6.4. Odběr vzorků

Vzorky půdy byly odebírány z určených lokalit a odběrových míst Edlemanovým vrtákem. Po odběru byl vzorek půdy zhomogenizován metodou kvartace; hmotnost laboratorního vzorku byla asi 1 kg. Půda byla následně vysušena, a to s ohledem na těkavější analyty. Proto byla půda nejprve sušena za laboratorní teploty několik dní; standardní metodou (teplota 105°C) byla u ní potom stanovena sušina.

Pro analýzu byly vybrány vzorky z různých lokalit a z různých požářišť. Vzhledem k nepřízní počasí nemohly být provedeny odběry normální půdy pro porovnání. Půda byla vzorkována z požářiště sběrného dvora v Malšicích, kde byly odebrány 2 vzorky z různých míst, dále z místa požáru lesa ve Velmovicích, v Brandýse, kde došlo k požáru hostince Melicharka – v této lokalitě byla vzorkována půda po požáru a také obsah krbu. Další vzorky byly odebrány při požáru lesa v Radstovicích, požáru rekreační chaty Beránkova pila v Heřmanovicích, požáru traktoru v Ludvíkově v Jeseníkách, požáru lesa v Otaslavicích, požáru automobilu a požáru skladové budovy bývalého Svitu ve Zlíně, kde byla v té době skladována elektronika.

6.5. Příprava a analýza reálných vzorků

6.5.1. Laboratorní přístroje a vybavení

- Analytické váhy HR-120, A&D Instruments, Japonsko
- Vakuová odparka BÜCHI, SRN
- Přístroj EVATERM pro sušení pod dusíkem, Labicom, Česká republika
- Elektrická laboratorní pec L05/11 HT 40, LAC, s.r.o. Rajhrad
- Další běžné analytické vybavení laboratoře – kádinky, pipety, vialky, kolony pro sloupcovou chromatografii, odpařovací baňky, stojan

6.5.2. Použité chemikálie

- n-Hexan pro kapalinovou chromatografii, MerckKGaA, SRN
- DCM pro organickou residuální analýzu, J. T. Barker, Nizozemí
- Silikagel 60 (0,040 - 0,063 mm), MerckKGaA, SRN
- Hydromatrix, Agilent Technologies, US
- Na₂SO₄ bezvodý, Penta Praha

6.5.3. Pracovní postup

Po odběru a vysušení vzorku bylo naváženo 10 g vzorku a stejné množství hydromatrix. Tato směs byla rozetřena a zhomogenizována v třecí misce. Touto směsí byla naplněna extrakční patrona a vzorek byl extrahován podle podmínek uvedených v tabulce č. 6. Extrakt byl potom přefiltrován přes bezvodý Na₂SO₄, z důvodu odstranění zbytků vlhkosti. Následovalo zakoncentrování extraktu na rotační vakuové odparce na objem 1 ml. Následně byl zahuštěný extrakt kvantitativně převeden na kolonu pro kolonovou chromatografii, na 10 cm vysoký sloupec silikagelu. Silikagel byl předem aktivován 2 hodiny při 250 °C. Poté následovala eluce:

- 1. frakce: 10 ml hexanu, následně 5 ml směsi hexan : dichlormethan (4:1) pro odstranění alifatických sloučenin ze vzorku
- 2. frakce: 20 ml směsi hexan : dichlormethan (1:1) pro eluci nativníchPAH a alkyl-PAH
- 3. frakce: 10 ml dichlormethanu pro eluci nitro-PAH.

Jednotlivé frakce byly jímány do odpařovacích baněk a odpařeny na rotační vakuové odparce do sucha. Odparek byl následně rozpuštěn v 1 ml cyklohexanu a stanoven jednorozměrnou plynovou chromatografií s hmotnostně spektrometrickou detekcí.

Tabulka č. 6: Parametry PSE pro extrakci vzorku půdy

Rozpouštědlo	DCM
Tlak	140 bar
Teplota	100 °C
Počet cyklů	2
Délka statického fáze	5 min
Oplach rozpouštědlem	20 s
Sušení plynem	1 min



Obr. č. 21: Přečištění a eluce reálných vzorků

6.5.4. Analýza plynovou chromatografií s hmotnostně spektrometrickou detekcí

Přístrojové vybavení:

- GCxGC-TOF MS system Pegasus®4D (LECO Instrumente, Michigan, USA), složený z plynového chromatografu 6890N (Agilent Technologies, St. Clara, USA) a hmotnostního spektrometru HS TOF MS (LECO Instrumente, Michigan, USA)
- Autosampler na 100 vzorků
- split/splitless injektor
- primární a sekundární kolona
- modulátor kryogenický LN2
- Termostat
- zásobník na tekutý dusík

Podmínky měření:

- Kolona: 30 m x 0.25 mm id, 0.25 tloušťka stacionární fáze
- Teplotní program: 50 °C na 1 min, 10 °C / min to 220 °C na 0 min, 5 °C / min do 320 °C na 12 min
- Teplotní program 2D: 60 °C na 1 min, 10 °C / min to 230 °C na 0 min, 5 °C / min do 310 °C na 10 min
- Nástřík: Splitless, uzavřený na 1 min, nástřík 1 µl, teplota nástříku 270 °C
- Nosný plyn: helium pod tlakem 100 kPa

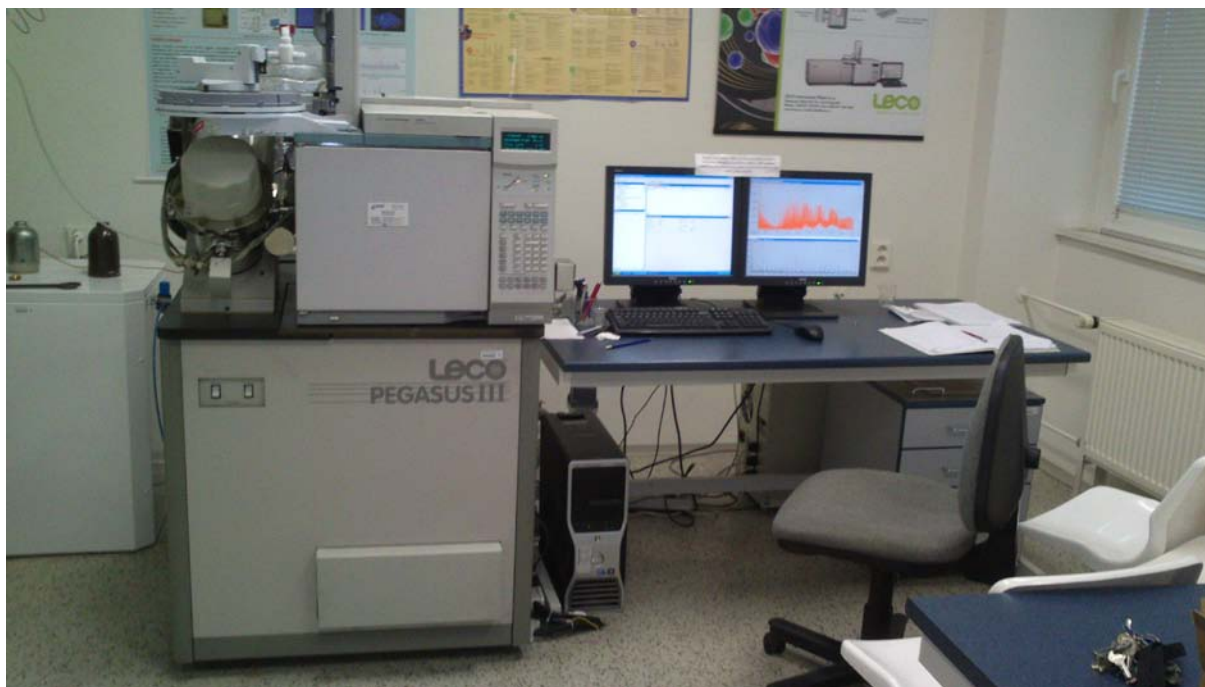
Hmotnostní detektor:

- TOF Hmotnostní spektrometr (LECO Instrumente, Michigan, USA)
- Ionizace: elektronová (70 eV)
- Teplota iontového zdroje: 250 °C
- Rozsah sledovaných molekulových hmotností: 40 – 400 m/z

- Skenovací rychlost: 100 spekter/s
- Napětí na detektoru: 1 850 V

Softwarové vybavení:

- LECO® ChromaTOF™ optimalizovaný pro Pegasus 4DHP (LECO Instrumente, Michigan, USA)
- Databáze a literatura pro vyhodnocování dat: NIST®MassSpectralLibrary



Obr. č. 22: Přístroj Pegasus pro GC-MS

7. VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1. Optimalizace eluce

Pro optimalizaci eluce pro alkyl- PAH byly zvoleny různé směsi elučních činidel. Výsledky z jednotlivými použitými elučními činidly, jejich množství a výtěžnosti jsou prezentovány v následující tabulce:

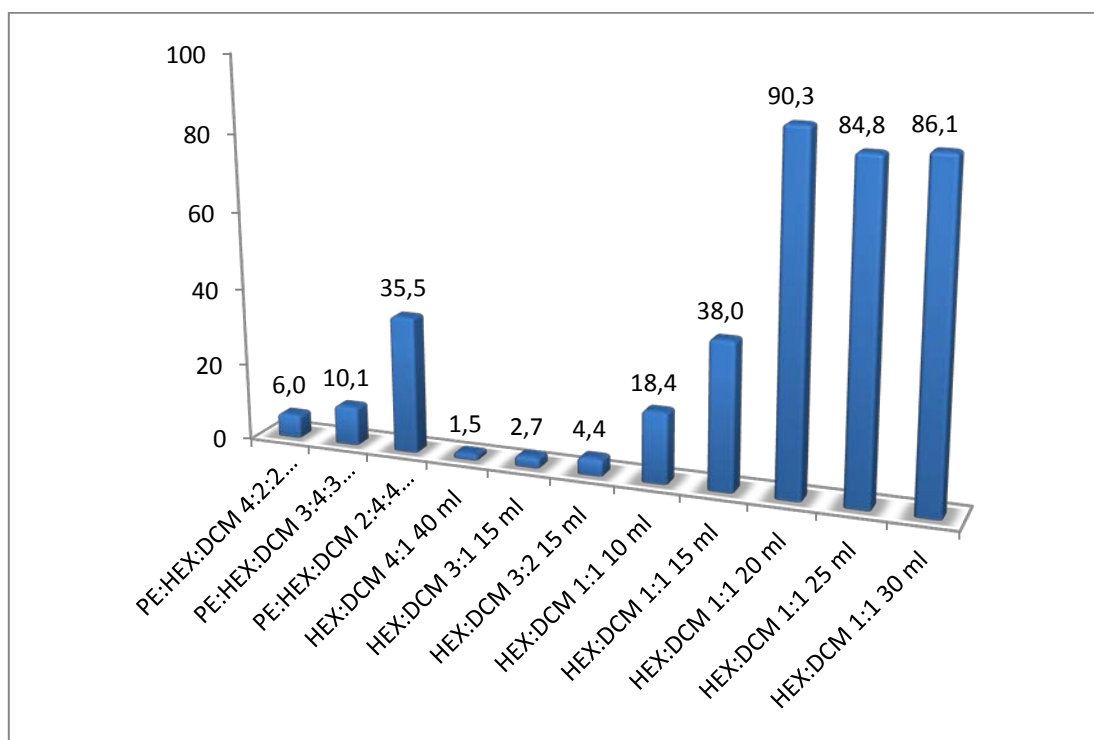
Tabulka č. 7: Optimalizace eluce

Eluční činidlo	Použité množství (ml)	Výtěžnost (%)
PE:HEX:DCM 4:2:2	40	6,0
PE:HEX:DCM 3:4:3	40	10,1
PE:HEX:DCM 2:4:4	40	35,5
HEX:DCM 4:1	40	1,5
HEX:DCM 3:1	15	2,7
HEX:DCM 3:2	15	4,4
HEX:DCM 1:1	10	18,4
HEX:DCM 1:1	15	38,0
HEX:DCM 1:1	20	90,3
HEX:DCM 1:1	25	84,8
HEX:DCM 1:1	30	86,1

Z výsledků vyplývá, že jako nejúčinnější eluční činidlo byla zvolena směs hexan : dichlormethan v poměru 1:1. Jak lze vidět i z přiloženého grafu (obr. č. 24), na eluci má výrazný vliv podíl DCM v jednotlivých elučních činidlech. Výtěžnost použitých elučních činidel roste právě se zvyšujícím se podílem DCM. Optimální množství pro eluci bylo stanoveno na 20 ml; při tomto objemu bylo dosaženo nejvyšší výtěžnosti. Zvýšení dávky elučního činidla nemělo vliv na výtěžnost metody, naopak došlo k mírnému poklesu výtěžnosti. Drobné kolísání mohlo být pravděpodobně také způsobeno rychlostí eluce, která má velký vliv na její průběh. Mohl se však také projevit vliv odpařování elučního činidla.



Obr. č. 23: Kolonová chromatografie pro optimalizaci eluce

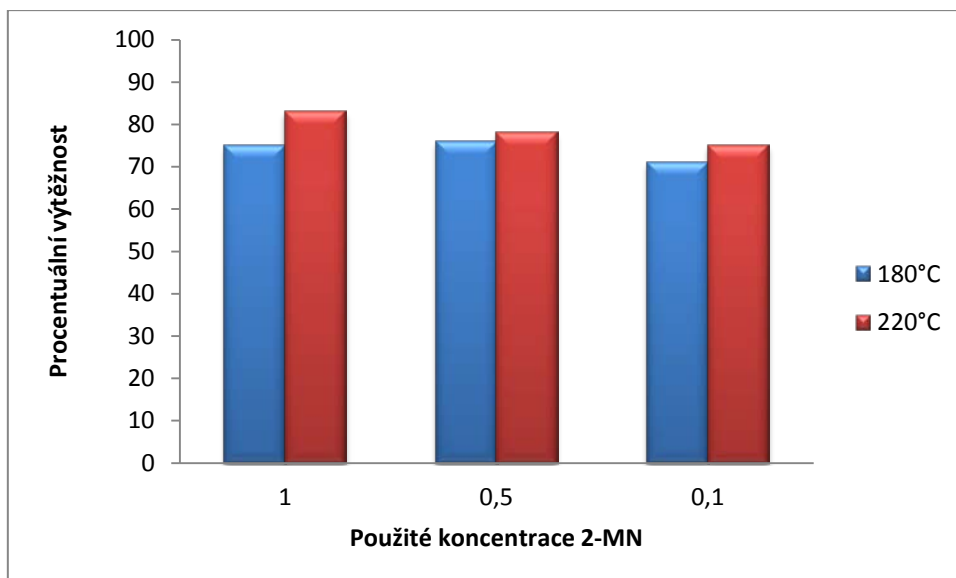


Obr. č. 24: Graf znázorňující procentuální výtěžnosti jednotlivých činidel.

Pro optimalizaci eluce nitro- PAH byla ověřována eluce různým množstvím DCM, avšak přes veškerou snahu eliminovat degradabilitu nitro- PAH nebylo možné získané hodnoty kvantifikovat. V souladu s již výše citovanou studií Pryčka a kol. [33] byla optimální dávka stanovena na 10 ml, avšak přes opakované pokusy nebyly nitroderiváty při finální analýze metodou GC-MS ve vzorcích stanoveny.

7.2. Optimalizace přípravy silikagelu

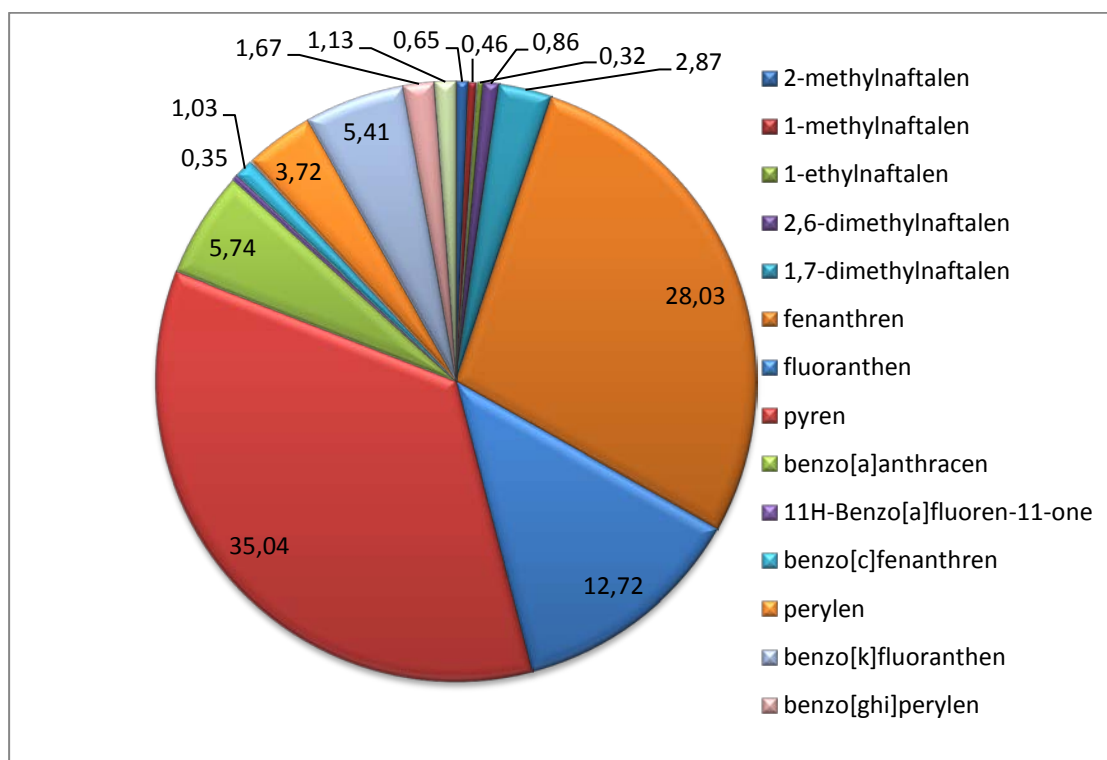
Pro necílený screening byla optimalizována aktivita silikagelu. Pro naše účely byla zvolena aktivace trvající 2 hodiny, při dvou zvolených teplotách, a to při 180°C a 220°C. Oba způsoby byly ověřovány při různé koncentraci 2-MN; získané výsledky byly spolu porovnány. Oba aktivované silikagely měly po eluci 20 ml prakticky totožnou výtěžnost, avšak pro silikagel aktivovaný při 220°C byla výtěžnost nepatrně větší, jak je prezentováno na následujícím grafu. Takto aktivovaný silikagel byl potom použit pro další analýzy.



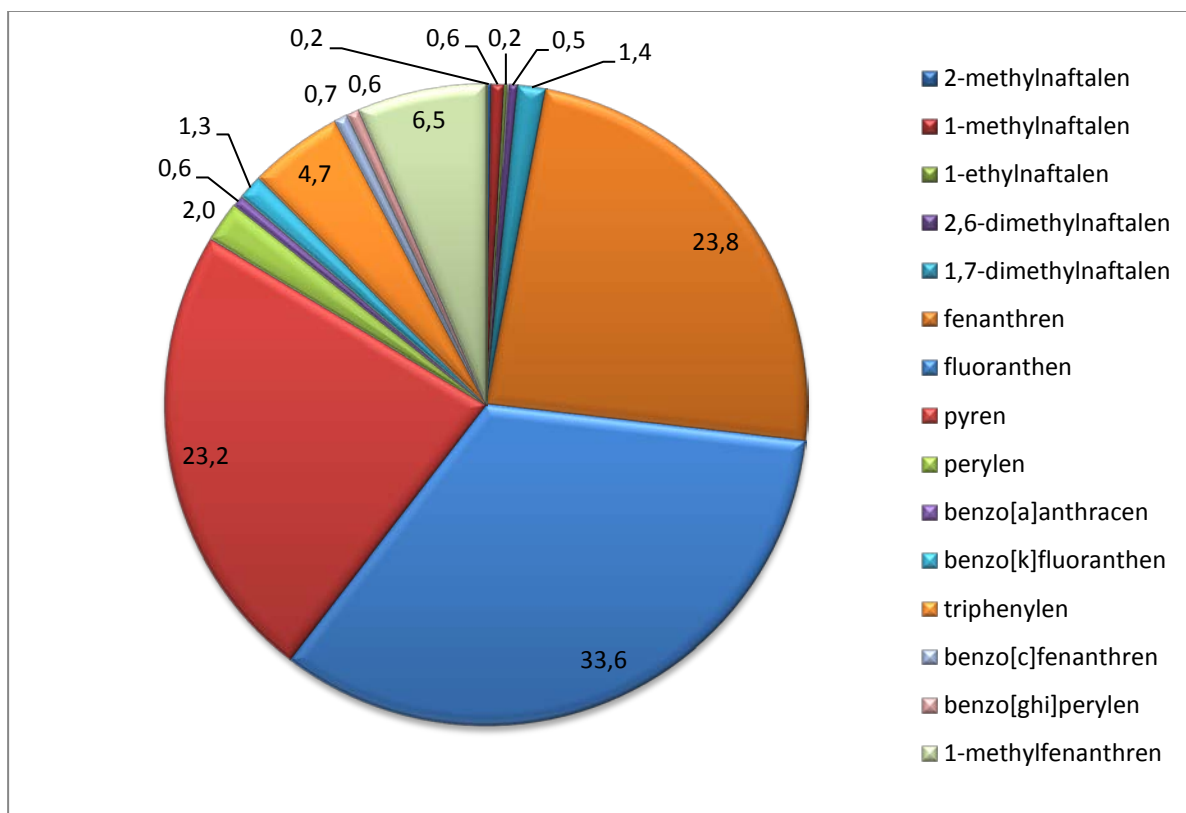
Obr. č. 25: Graf procentuálního zastoupení koncentrací 2-MN při různě aktivovaném silikagelu

7.3. Identifikace polutantů v jednotlivých vzorcích požářišť

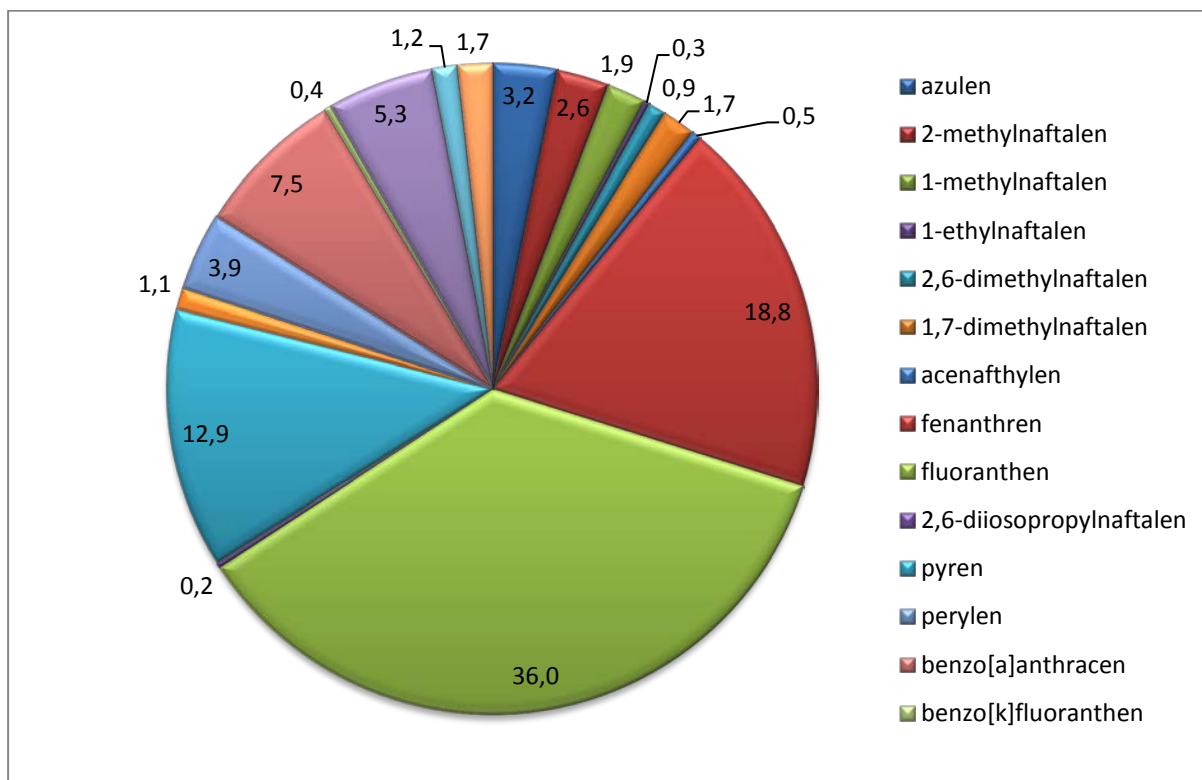
Necílený screening byl zaměřen hlavně na polyaromatické uhlovodíky a jejich deriváty. V každém vzorku byly vyhledány pomocí knihovny spekter PAH, jejich deriváty a jiné detekované organické látky. Pro každý vzorek byla sečtena plocha píků všech detekovaných látek a poté vyjádřeno procentuální zastoupení každé z nich. Veškeré naměřené a vypočítané hodnoty jsou uvedeny v následujících grafech (obr. č. 26 až 33).



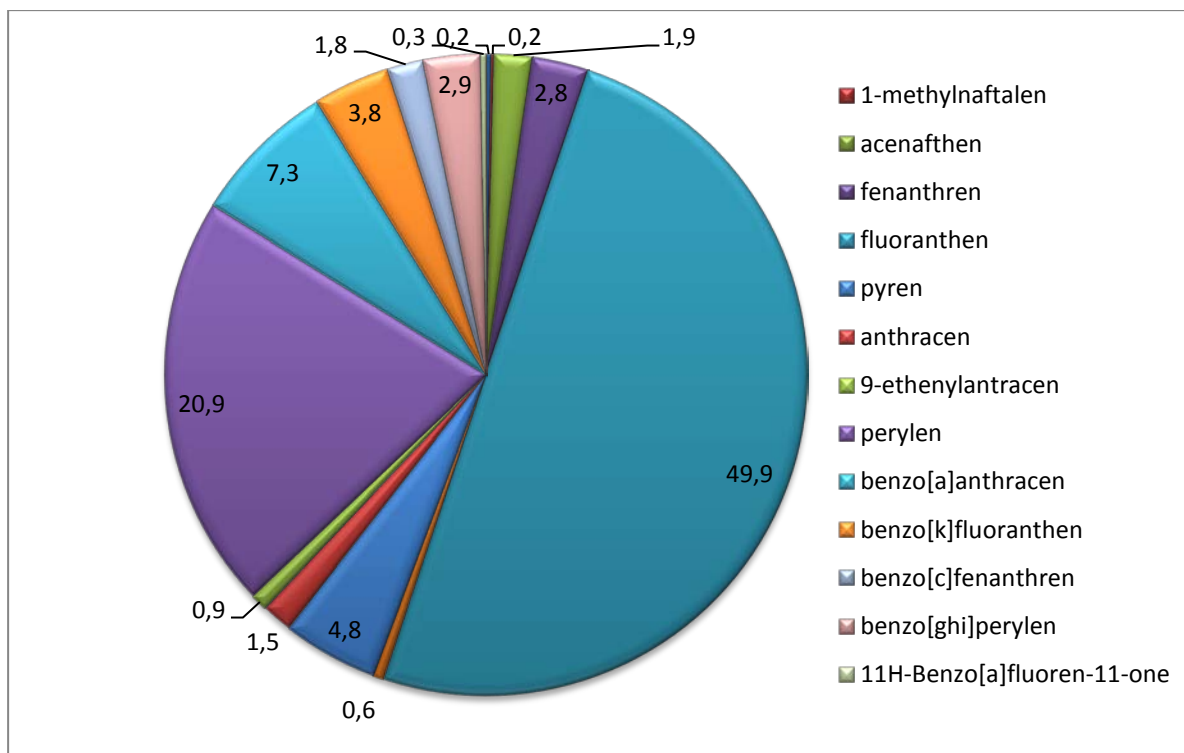
Obr. č. 26: Graf procentuálního zastoupení organických polutantů ve vzorku požáru lesa ve Velmovicích



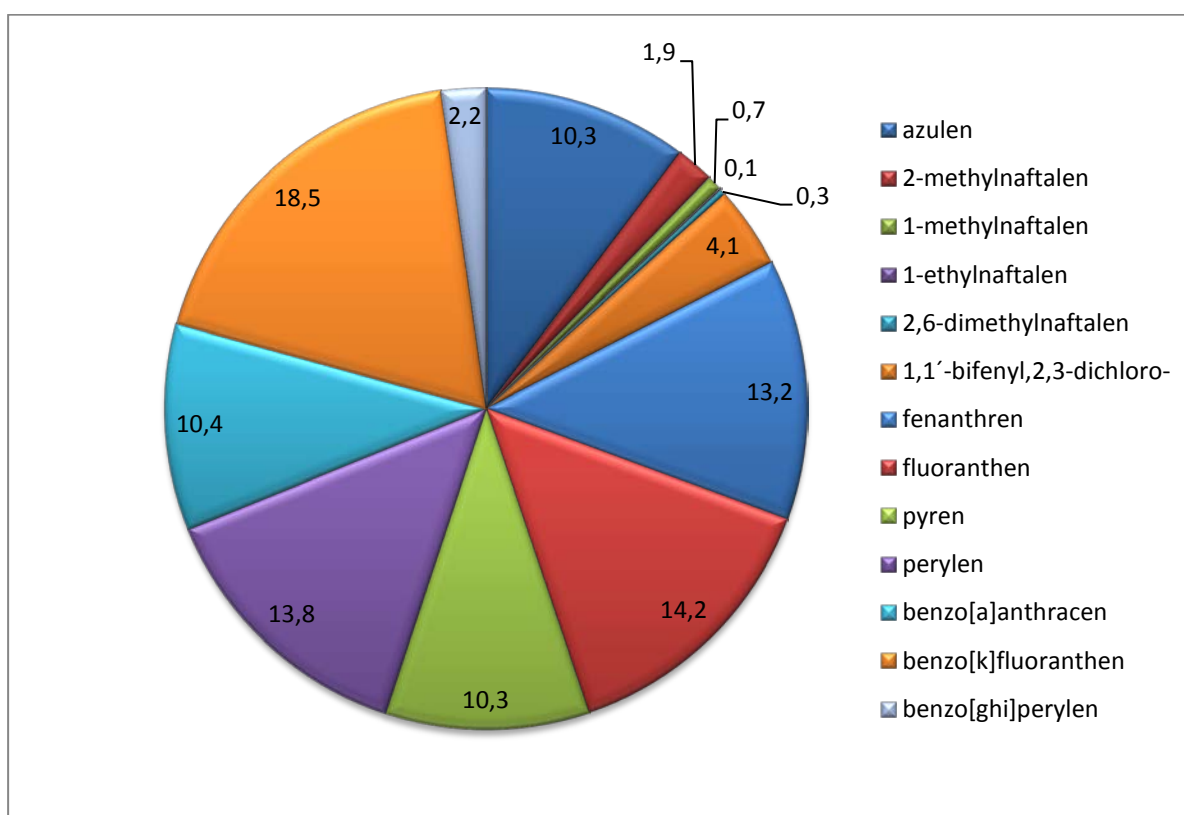
Obr. č. 27: Graf procentuálního zastoupení organických polutantů ve vzorku požáru v Melicharce



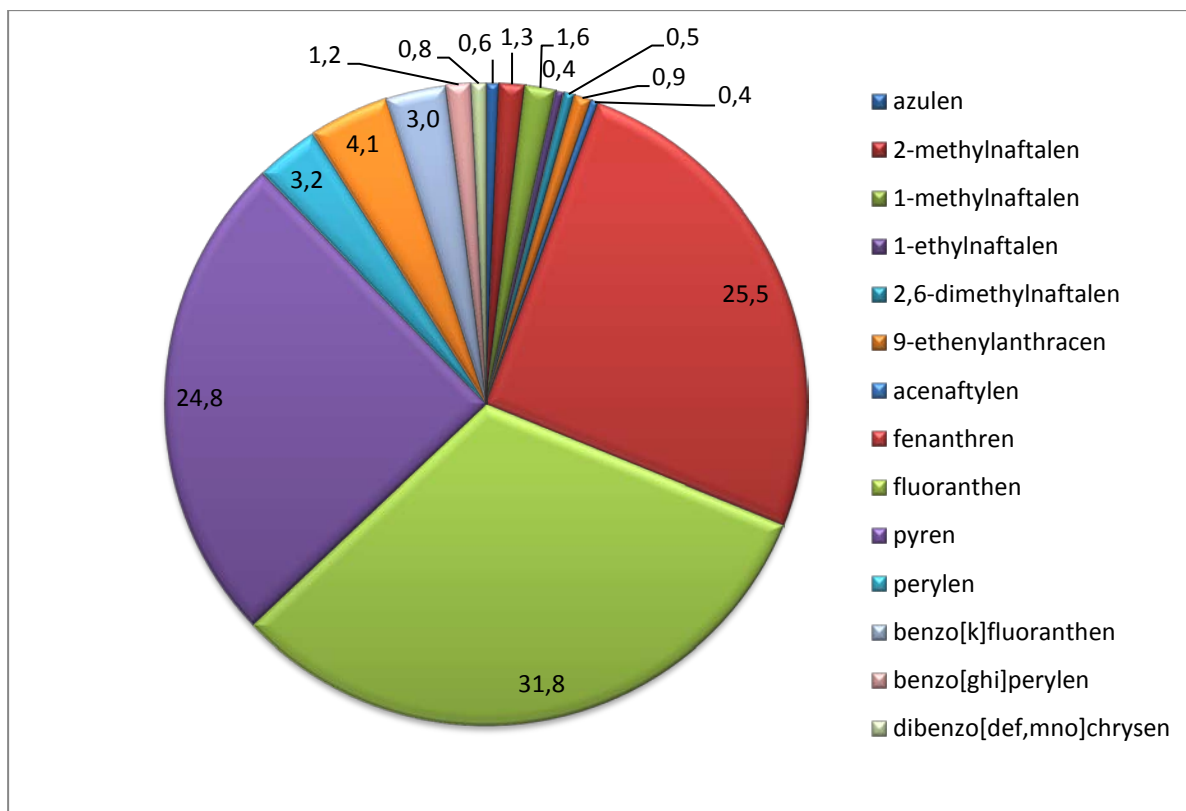
Obr. č. 28: Graf procentuálního zastoupení organických polutantů ve vzorku požáru skladové budovy ve Zlíně



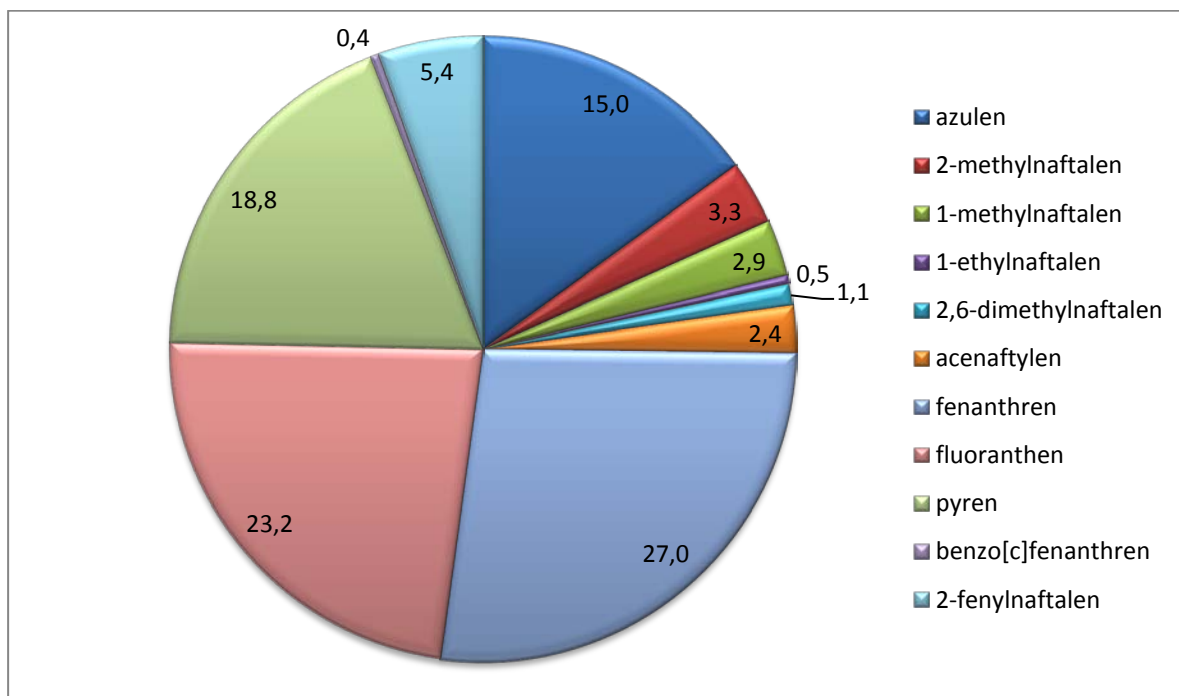
Obr. č. 29: Graf procentuálního zastoupení organických polutantů ve vzorku požárutraktoruv Ludvíkově



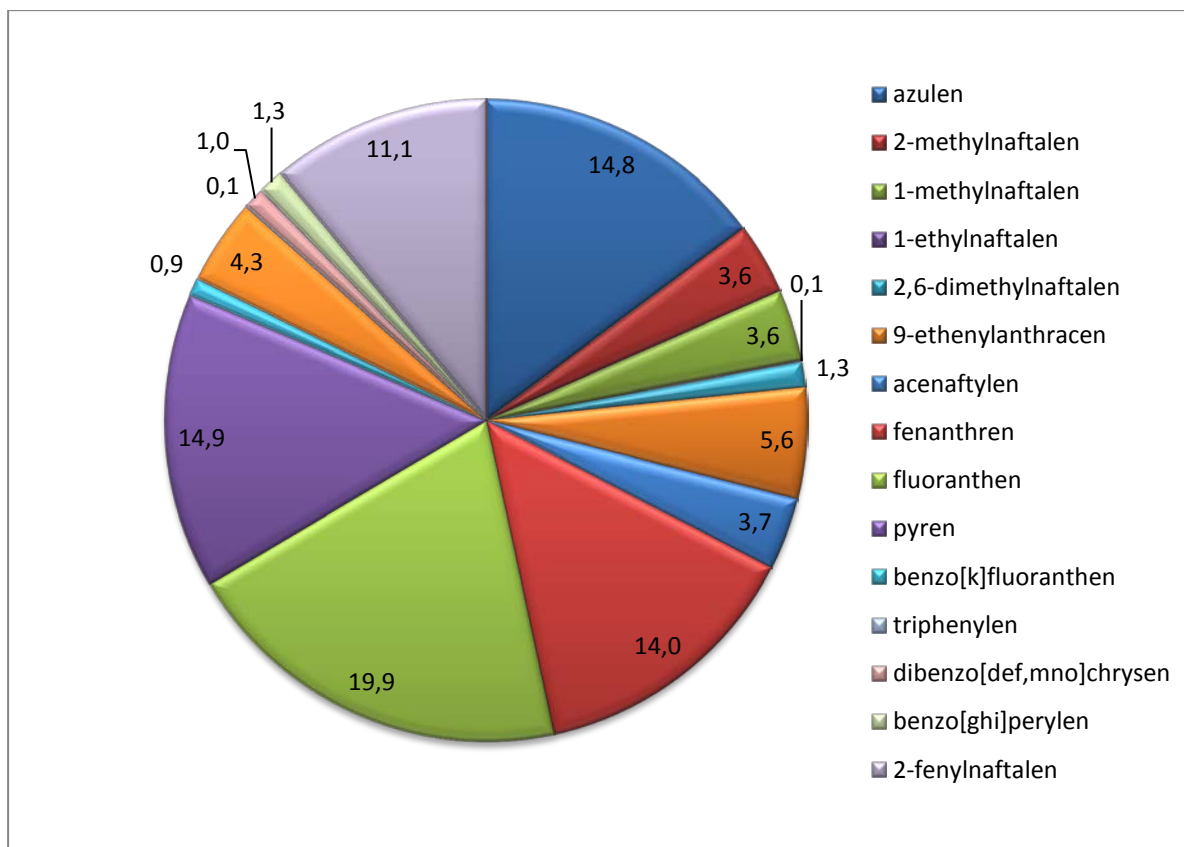
Obr. č. 30: Graf procentuálního zastoupení organických polutantů ve vzorku požáru lesního porostu v Otaslavicích



Obr. č. 31: Graf procentuálního zastoupení organických polutantů ve vzorku požáru chaty Beránkova pila v Heřmanovicích

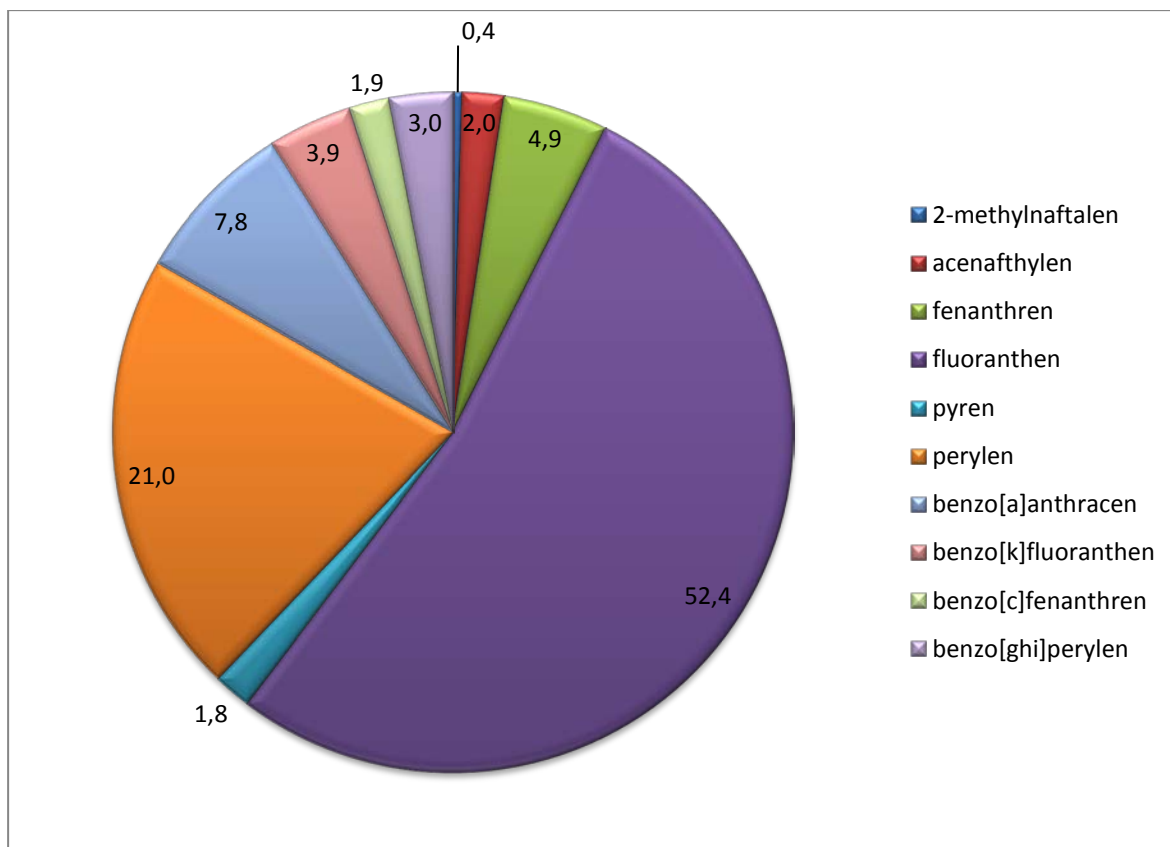


Obr. č. 32: Graf procentuálního zastoupení organických polutantů ve vzorku požáru Sběrného dvora v Malšicích



Obr. č. 33: Graf procentuálního zastoupení organických polutantů ve vzorku požáru Sběrného dvora v Malšicích

Z výsledků necíleného screeningu je patrná široká rozmanitost detekovaných PAH. Ve vzorcích byly zjištěny jak mateřské PAH, tak také jejich různé deriváty, nejčastěji alkylderiváty. Vlastní stanovení polutantů bylo obtížné vzhledem k nastavení knihovny, protože k širší detekci organických polutantů by bylo zapotřebí obsáhlejší knihovny spekter. Tu by bylo možno vytvořit nebo doplnit za pomoci standardů analytů, které bychom chtěli do necíleného screeningu zařadit. Ve vzorcích byly za pomoci přístupné knihovny spekter stanoveny ve vzorku i PCB. Dalším prokázaným analytem byl zjištěn. V podstatě se jedná o izomer naftalenu, který se vyskytuje v silicích rostlin a je hojně využíván ve farmacii. V následujícím grafu bude uvedeno 10 PAH, které byly ve vzorcích nejvíce zastoupeny.



Obr. č. 34: Graf deseti nejvíce zastoupených organických polutantů v reálných vzorcích

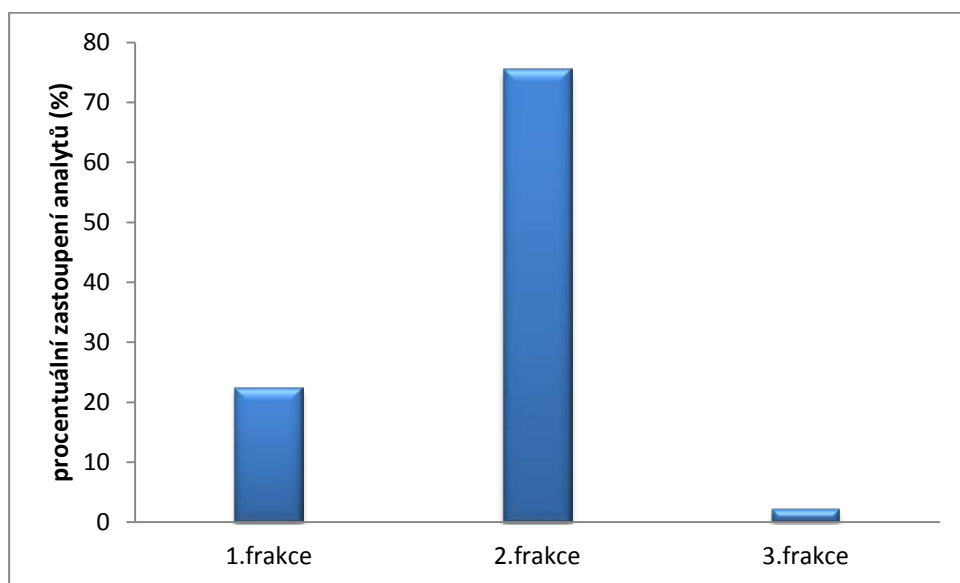
Z grafu prezentovaného na obr. č. 34 je patrné vysoké zastoupení PAH, které patří mezi základních 16 PAH, které pro hodnocení PAH doporučuje US EPA, avšak s výjimkou peryleny a 2 - methylnaftalenu. Nejvyšší znečištění půdy polyaromatickými uhlovodíky bylo prokázáno ve vzorcích ze Zlína a z požáru traktoru v Ludvíkově v Jeseníkách, jak je uvedeno v následující tabulce č. 8. Pro porovnání byly sumarizovány všechny individuální PAH zjištěné ve všech vzorkovaných lokalitách a kontaminace byla vyjádřena jako procentuální znečištění PAH a jejich deriváty. Nejvyšší zastoupení jednotlivých uhlovodíků odpovídá i nejvyššímu zastoupení zjištěnému ve studii půdy odebrané ve městě Shanghai [54]. Pokud by se kvantifikovaly jednotlivé analyty, lze se domnívat, že zjištěné koncentrace by byly mnohem vyšší z důvodu vzorkované matrice, protože se nejednalo o běžnou půdu, ale o půdu z požářišť. Tento názor je v souladu s kvantifikací reálných vzorků, kde byly identifikovány alkylderiváty PAH.

Tabulka č.8: Porovnání znečištění organickými látkami v jednotlivých vzorcích

Lokalita	Procentuální znečištění %
Ludvíkov	90,30
Zlín	4,88
Sběrný dvůr 2	1,39
Berankova pila	1,05
Sběrný dvůr 1	0,82
Melicharka	0,74
Velmovice	0,56
Otaslavice	0,26

Jak z tabulky č. 8 vyplývá, největší znečištění bylo zaznamenáno ve vzorcích z požářiště skladu ve Zlíně a z požáru traktoru v Ludvíkově. Poměrně vysoké koncentrace PAH ve vzorku z Ludvíkova se dají objasnit druhem zhořelé matrice. Vzhledem k množství oleje, palivové směsi a plastových dílů které traktor obsahoval, není vysoká koncentrace překvapující. Navíc byly tyto vzorky analyzovány ve velmi krátké době po požáru (2 dny), čímž mohlo být zamezeno degradaci a ztrátě analytů ve vzorkované matrici. Nejnížší koncentrace uhlovodíků byla naopak stanovena ve vzorcích z požárů lesů. I když se dají jehličnaté stromy považovat za bioindikátory využívané v environmentální chemii, ve vzorkovaných lokalitách není velký problém se zhoršeným ovzduším, a proto ani koncentrace zjištěné po požáru lesa nebyly nikterak vysoké.

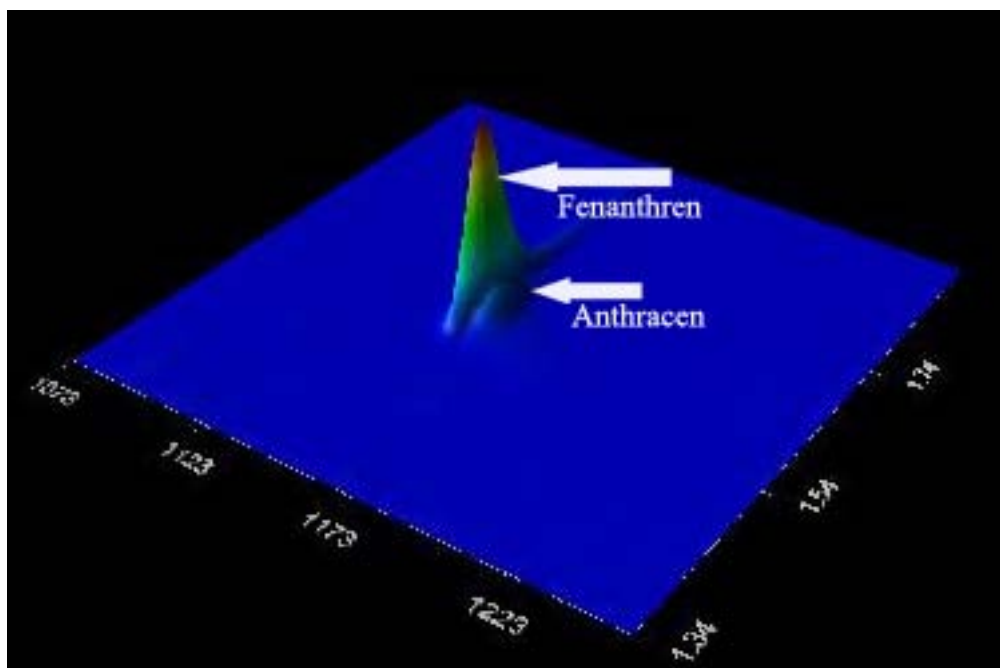
Pomocí následujícího grafu (obr. č. 35) bylo provedeno posouzení zastoupení PAH v jednotlivých frakcích. Definice frakcionační metody je prezentována v kapitole 6.5.3.



Obr. č. 35: Graf zastoupení PAH v jednotlivých frakcích

Na základě tohoto grafu lze konstatovat, že nejvyšší zastoupení PAH bylo ve 2. frakci, což přímo odpovídá námi zvolené metodě. Vyšší zastoupení v 1. frakci mohlo být způsobeno nejspíše extrakčním činidlem, kterým, jak již bylo zmíněno, byl DCM. Jeho vliv na eluci byl již dokumentován v předešlých kapitolách této diplomové práce. Při odpařování nebyl extrakt vysušen zcela do sucha, avšak byl na kolonu nanášen v malém množství DCM.

Pro necílený screening byla také použita metoda 2D. Na přiloženém chromatogramu jsou patrní 2 různí zástupci PAH. Jedná se o 2D analýzu vzorku požáru lesa ve Velmovicích. Na chromatografu jsou vidět anthracen a fenanthren. Jak již bylo výše doloženo, ve vyšší koncentraci se v tomto vzorku vyskytuje právě fenanthren.



Obr. č. 36: Ukázka 2D chromatografie pro anthracen a fenanthren

7.4. Stanovení alkylderivátů PAH v reálných vzorcích

Identifikace polutantů v reálných vzorcích byla zaměřena především na alkylderiváty PAH, tj. 1 - methylnaftalen, 2 - methylnaftalen, 1- ethylnaftalen a 2,6 - dimethylnaftalen. Tyto deriváty byly kvantifikovány v každém analyzovaném vzorku. Následně byl u každého derivátu vytvořen graf s koncentrací derivátů vzhledem ke vzorkované lokalitě. Z kalibrační křivky byl vypočítán i limit detekce a kvantifikace pro každý detekovaný derivát PAH.

Tabulka č.9: Přehled směrnice kalibračních křivek pro každý derivát

	Rovnice kalibrační křivky
2 - methylnaftalen	$y = 162,59x$
1 - methylnaftalen	$y = 217,53x$
1 - ethylnaftalen	$y = 137,07x$
2, 6 - dimethylnaftalen	$y = 215,27x$

Tabulka č.10: Přehled hodnot limitů detekce a kvantifikace

	LOD ($\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$)	LOQ ($\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$)
2 - methylnaftalen	1,18	3,92
1 - methylnaftalen	1,12	3,74
1 - ethylnaftalen	1,91	6,38
2, 6 - dimethylnaftalen	1,12	3,72

Jednotlivé vypočítané koncentrace analytů prokázané v příslušných lokalitách jsou prezentovány v následující tabulce č. 11. Koncentrace byly vypočítány z kalibračních křivek a

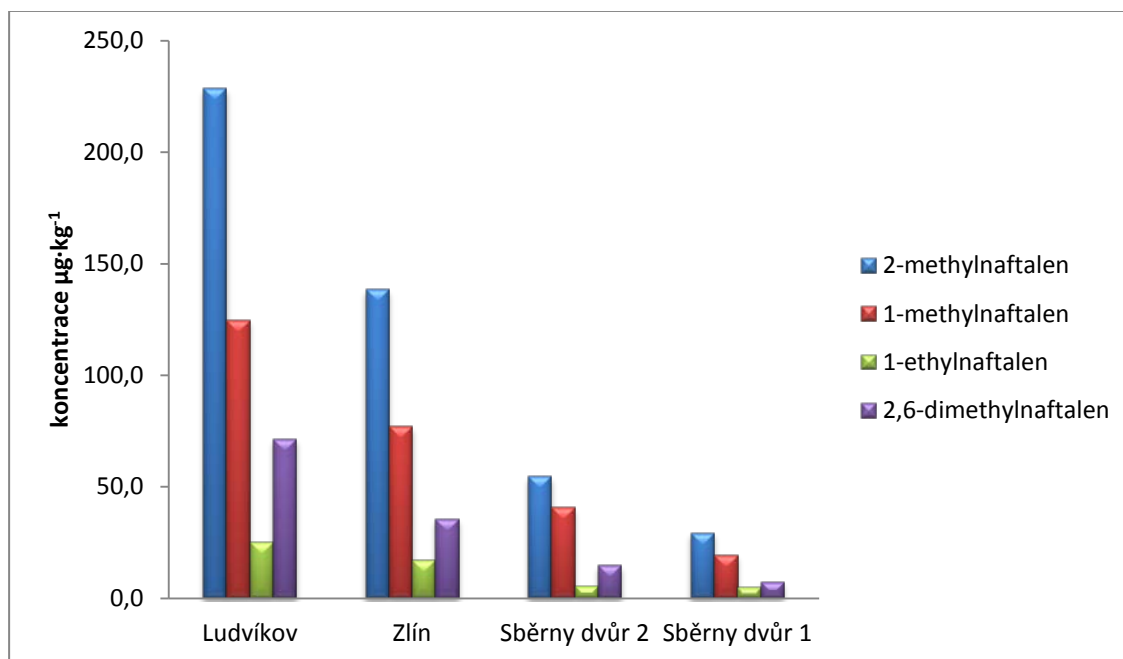
také z naměřených spekter. Jednotlivé deriváty PAH byly identifikovány podle charakteristického retenčního času, který byl zjištěn při analýze jednotlivých standardů.

Tabulka č.11: Naměřené hodnoty jednotlivých derivátů

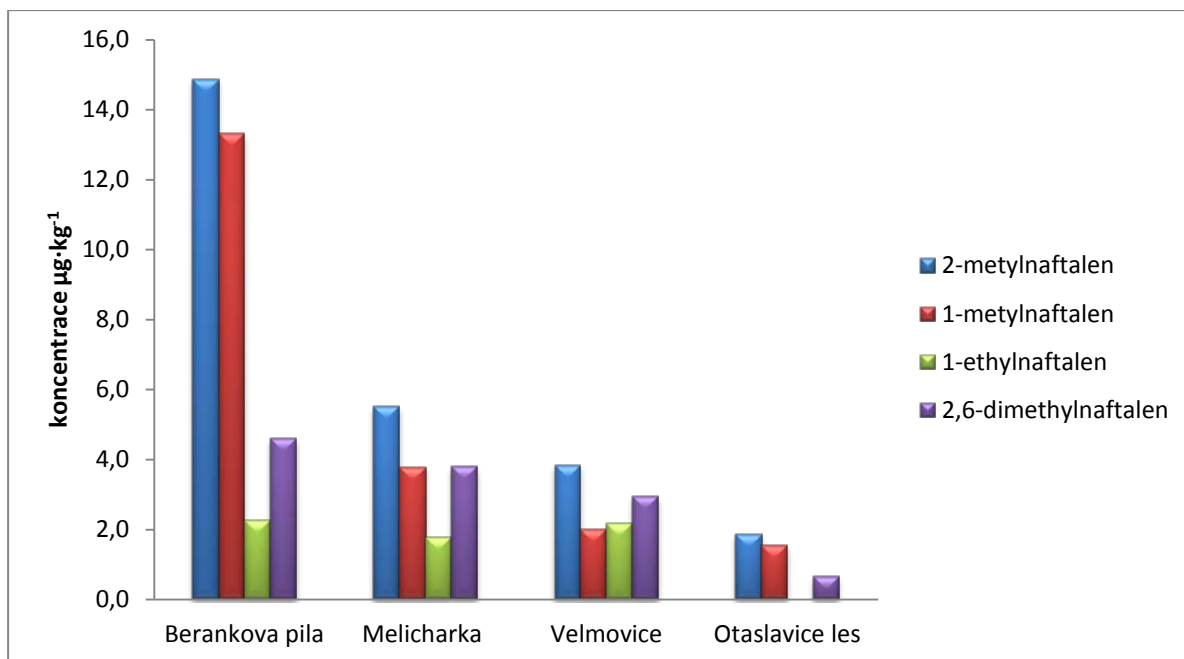
lokalita	koncentrace ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)			
	2-MN	1-MN	2-EN	2,6-DMN
Ludvíkov	228,7	124,8	25,17	71,53
Zlín	138,3	77,12	17,26	35,39
Sběrný dvůr 2	54,46	40,70	5,443	14,73
Sběrný dvůr 1	29,19	19,39	4,801	7,272
Berankova pila	14,87	13,32	2,250	4,609
Melicharka	5,508	3,790	1,772	3,799
Velmovice	3,838	1,998	2,170	2,945
Otaslavice les	1,876	1,548	<LOQ	0,661

Vzorky požáru automobilu a vzorky odebrané z hostince Melicharka nemohly být analyzovány vzhledem k extrémnímu znečištění vzorku. Po extrakci byl extrakt opakovaně přechištěván kolonovou chromatografií, avšak tyto vzorky se nepodařilo přechistit, patrně z důvodu přítomnosti ropné frakce, která se ve vzorcích vyskytovala.

Koncentrace analytů v reálných vzorcích byla zpracována graficky a je prezentována na obr. č. 30 a č. 31. Pro lepší přehlednost byl graf rozdělen vždy po 4 vzorcích, a to podle množství zjištěného analytu.

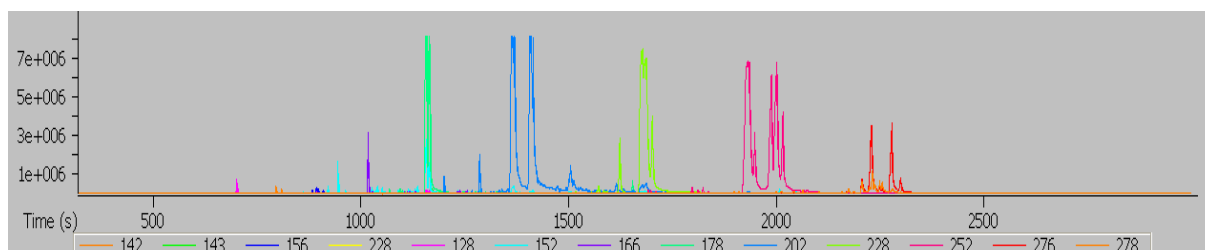


Obr. č. 37: Graf koncentrace analytů v reálných vzorcích.



Obr. č. 38: Graf koncentrace analytů v reálných vzorcích.

Na základě prezentovaných výsledků lze konstatovat, že ve všech vzorcích byla zjištěna nejvyšší koncentrace 2 - MN a 1 - MN. To bylo pravděpodobně způsobeno vyšší sorbcí těchto derivátů na půdní pevné částičky. Ke stejnému závěru dospěli i Wang a kol. [54], kteří ve vzorcích odebraných ve městě Schanghai prokázali vyšší koncentraci 2-MN než 1-MN. Pro porovnání přítomnosti ostatních 2 derivátů nebyla v dostupné literatuře nalezena žádná studie, pro porovnání. Dá se však předpokládat vyšší stabilita 2,6 - DMN než 1 - EN, což by mohlo mít za následek průkaz vyšší koncentrace 2,6 – DMN. tohoto derivátu. Lze také pozorovat charakter jednotlivých požárů. Reálné vzorky po kvantifikaci těchto derivátů přímo korelují s NS.



Obr. č. 39: Ukázka chromatogramu pro vzorek požáru traktoru v Ludvíkově

8. ZÁVĚR

Cílem předložené diplomové práce bylo stanovit deriváty polycyklických aromatických uhlovodíků ve složkách životního prostředí a rovněž ověřit metodu necíleného screeningu zaměřeného na polyaromatické uhlovodíky. Pro tyto účely byla zpracována podrobná rešerše umožňující provedení plánovaných experimentů. Jako vzorkovaná matrice byla nakonec zvolena půda. Důvodem bylo především to, že vzhledem k nepříznivým klimatickým podmínkám, které nám neumožnily provést předpokládané odběry půdy, byla použita půda odebraná z požářišť, u které bylo možné předpokládat vysoké koncentrace těchto polutantů.

V rámci diplomové práce byly získány následující poznatky a výsledky:

- Pro stanovení vybraných substitučních derivátů PAH byla vypracována preanalytická i analytická metoda na bázi separačních metod.
- Pozornost byla zaměřena především na alkylderiváty polyaromatických uhlovodíků a rovněž na nitroderiváty polyaromatických uhlovodíků.
- Následně byly touto metodou stanoveny alkylderiváty v reálných vzorcích půdy odebrané z požářišť, situovaných v různých lokalitách v ČR. Jednalo se o rozdílné typy požárů z hlediska shořelého materiálu.
- Rovněž bylo provedeno použití metody necíleného screeningu pro odebrané vzorky půd, ve kterých byly stanoveny PAH, případně jiné organické polutanty.
- Jednotlivá naměřená spektra byla porovnána s knihovnou spekter NIST a byly identifikovány jednotlivé polutanty.
- V reálných vzorcích bylo prokázáno velké množství polyaromatických uhlovodíků a i jiných organických sloučenin.
- Metoda necíleného screeningu nám poskytla dostatek podkladů a lze konstatovat, že pro naše účely se osvědčila.
- Lze proto předpokládat, že s rozšířením knihovny spekter by mohla být tato metoda aplikována i na ostatní organické polutanty a přispěla by k hodnocení úrovně zátěže ekosystému z hlediska znečištění prioritními organickými polutanty.

9. SEZNAM ZDROJŮ

- [1] Integrovaný registr znečištění: Polycyklické aromatické uhlovodíky. [online]. [cit. 2013-03-15]. Dostupné z: <http://www.irz.cz/node/86>
- [2] ČESKÝ HYDROMETEOROLOGICKÝ ÚSTAV. *Integrované hodnocení a řízení kvality ovzduší v návaznosti na dceřiné směrnice týkající se TK, PAHs, PM 10 a benzenu: Toxikologicky závažné látky v emisích PM 10, problematika emisí prachu a obsahy těžkých kovů v uhlí*. Praha, 2003. Dostupné z: http://old.chmi.cz/uoco/prj/vav_740_3_02/dp1dod.pdf
- [3] Adamec V. a kol.: DÚ 04 – Analýza toxických a genotoxických účinků reálných směsí emitovaných z dopravy (http://www.cdv.cz/text/szp/13904/zprava13904/2004/du04.pdf)
- [4] SCF 2002: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons – Occurrence in foods, dietary exposure and health effects, SCF/CS/CNTM/PAH/29 ADD1 Final, prosinec 2002 (http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out154_en.pdf)
- [5] KIMMER, D. Polycyklické aromatické uhlovodíky v potravinách. In: *Toxicology* [online]. České Budějovice, 2011, 3.2. [cit. 2013-03-15]. Dostupné z: http://www.google.cz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&ved=0CDwQFjAC&url=http%3A%2F%2Fwww.toxicology.cz%2F_soubory%2Fprezentace%2Fpau.pps&ei=NMYUd6ZBs3otQaUqYDQAg&usg=AFQjCNEtYkBZa6dskC3ywt6IsqynELEXRQ&bvm=bv.42080656,d.Yms
- [6] VAN JAARSVELD, J.A., VAN PUL, W.A.J. a DE LEEUW, F.A.A.M. Modelling transport and deposition of persistent organic pollutants in the European region. *ScienceDirect*. 1997, s. 1011-1024.
- [7] POPL, M., FAHNRICH, J. *Analytická chemie životního prostředí*. Praha : Ediční a audiovizuální centrum VŠCHT, 1995. 262 s.
- [8] JAROŠ, F. *Choroby dýchacích orgánů a organický prach*. Martin, SR : Osveta, 1995. 203 s.
- [9] SEJKROVA, I. Znečištění ovzduší - fyzikálně-chemické vlastnosti. ENVITECH BOHEMIA. *Virtuální centrum informací* [online]. Praha, 2003 [cit. 2013-03-15]. Dostupné z: <http://www.virtualnicentrum.cz>
- [10] Dvořáková, M., Fiala, J., Livorová, H., Srněnský, R. (1995): Vypracování postupů pro zohlednění druhů pokryvu terénu při odhadu rychlosti suché depozice SO₂ a prašného aerosolu. Zdokonalení metod územního a časového hodnocení kvality ovzduší. DÚ 6.1.2.1. projektu Informační zabezpečení ochrany ovzduší Státního programu péče o životní prostředí ČR. MS ČHMÚ, Praha.
- [11] ALBINET, A., LEOZ-GARZANDIA, E. a BUDZINSKI, H. Nitrated and oxygenated derivatives of polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air of two French alpine valleys: Part 1: Concentrations, sources and gas/particle partitioning. *Atmospheric Environment*. 2008, č. 42, 43–54. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2007.10.009.

- [12] TANG, L., TANG, X.Y., ZHU, Y.G., ZHENG, M.H. Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in urban soils in Beijing, China. *Environment International*. 2005, č. 31, 822–828. DOI: 10.1016/j.envint.2005.05.031.
- [13] ALBINETA, A., E. LEOZ-GARZIANDIAA a H. BUDZINSKIB. Nitrated and oxygenated derivatives of polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air of two French alpine valleys: Part 1: Concentrations, sources and gas/particle partitioning. *Atmospheric Environment*. 2008, č. 42, 43–54. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2007.10.009.
- [14] ALBINET, A., LEOZ-GARZIANDIA, E., BUDZINSKI, H., VIILENAVE, E. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), nitrated PAHs and oxygenated PAHs in ambient air of the Marseilles area (South of France): Concentrations and sources. *Science of The Total Environment*. 2007, č. 384, 280–292. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2007.04.028.
- [15] LI, Y.S., FU, P.P., CHURCH, J.S. The conformation of some nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Molecular Structure*. 2001, č. 550, s. 1-9. DOI: 10.1016/S0022-2860(00)00519-6.
- [16] BAMFORD, H.A., BAKER, J.E. Nitro-polycyclic aromatic hydrocarbon concentrations and sources in urban and suburban atmospheres of the Mid-Atlantic region. *Atmospheric Environment*. 2003, č. 37, 2077–2091. DOI: 10.1016/S1352-2310(03)00102-X.
- [17] KOCOUREK, V., HAJŠLOVÁ, J. VÝZKUMNÝ ÚSTAV ROSTLINNÉ VÝROBY,. *Nitrované polycyklické uhlovodíky (nitroPAH): environmentální karcinogeny*. Praha, 2004, 41 s. Dostupné z: <http://www.phyotosanitary.org/projekty/2004/vvf-09-04.pdf>
- [18] MARINO, F., CECINATO, A., SISKOS, A.P. Nitro-PAH in ambient particulate matter in the atmosphere of Athens. *Chemosphere*. 2000, č. 40. DOI: 10.1016/S0045-6535(99)00308-2.
- [19] RHODESA, S., FARWELL, A., HEWITT, M.L., MACKINNON, M. The effects of dimethylated and alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons on the embryonic development of the Japanese medaka. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2005, č. 60, 247–258. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2004.08.002.
- [20] TANCELL, P.J., PEMBERTON R.D., BRAVEN, J., RHEAD, M.M. Diesel combustion of an alkylated polycyclic aromatic hydrocarbon. *Fuel*. 1996, č. 6, 717–723. DOI: 10.1016/0016-2361(95)00300-2.
- [21] IRWIN, R.J., VAN MOUWERIK, M., STEVENS L., SEESE, M.D. *ALKYL HOMOLOGS OF PAHS*. Colorado, 1997. ENVIRONMENTAL CONTAMINANTS ENCYCLOPEDIA. Dostupné z: <http://www.nature.nps.gov/water/ecencyclopedia/assets/contaminant-pdfs/alkylpah.pdf>. Studije. COLORADO STATE UNIVERSITY.
- [22] WANG, G., KAWAMURA K., ZHAO, X., LI, Q., DAI, Z., NIU, H. Identification, abundance and seasonal variation of anthropogenic organic aerosols from a mega-city in China. *Atmospheric Environment*. 2007, č. 2, 407–416. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2006.07.033.

- [23] FEILBERG, A., KAMENS, R.M., STROMMEN, M.R., NIELSEN, T. Modeling the formation, decay, and partitioning of semivolatile nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons (nitronaphthalenes) in the atmosphere. *Atmospheric Environment*. 1999, č. 8, 1231–1243. DOI: 10.1016/S1352-2310(98)00275-1.
- [24] SAHA, M., et al. Sources of sedimentary PAHs in tropical Asian waters: Differentiation between pyrogenic and petrogenic sources by alkyl homolog abundance. *Marine Pollution Bulletin*. 2009, č. 58, 189–200. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2008.04.049.
- [25] LEHNDORFFA, E., SCHWARK L. Biomonitoring airborne parent and alkylated three-ring PAHs in the Greater Cologne Conurbation I: Temporal accumulation patterns. *Environmental Pollution*. 2009, č. 4, 1323–1331. DOI: 10.1016/j.envpol.2008.11.037.
- [26] HOLOUBEK, I. *Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs) v prostředí*. Praha: Český ekologický ústav, 1996. ISBN 8085087448.
- [27] LENÍČEK, J., BENEŠ, I., SEKYRA, M., BEDNÁRKOVÁ K., ŠÍPEK, F. Nitrované polycyklické aromatické uhlovodíky v ovzduší Teplic a Prachatic. *Ochrana ovzduší*. 2000, č. 2, s. 8-15. DOI: 1211-0337. Dostupné z: <http://www.medvik.cz/link/bmc00016191>
- [28] JINHUI, X., LEE, F.S.C. Analysis of nitrated polynuclear aromatic hydrocarbons. *Chemosphere*. 2001, č. 42, s. 245-250. DOI: 10.1016/S0045-6535(00)00078-3.
- [29] MIET, K., Le MENACH, K., FLAUD, P.M., VILLENAVE, E., BUDZINSKI, H. Heterogeneous reactivity of pyrene and 1-nitropyrene with NO₂: Kinetics, product yields and mechanism. *Atmospheric Environment*. 2009, č. 42, 837–843. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2008.10.041.
- [30] DIMASHKI, M., HARRAD S., HARRISON, R.M. Measurements of nitro-PAH in the atmospheres of two cities. *Atmospheric Environment*. 2000, č. 34, 2459–2469. DOI: 10.1016/S1352-2310(99)00417-3.
- [31] DOUCE, D.S., CLENCH, M.R., COOKE, M., WANG, J. Evidence for the adsorption of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons by tree bark. *Journal of Chromatography A*. 1997, č. 782, 275–283. DOI: 10.1016/S0021-9673(97)00602-X.
- [32] EPA: *Method 3545A (SW-846): Pressurized Fluid Extraction (PFE)* [online]. 1998, last revision February 2007 [cit. 11. 4. 2013]. Dostupné z: <<http://www.epa.gov/sam/pdfs/EPA-3545a.pdf>>.
- [33] PRYČEK, J., ŠIMEK, Z., CIGANEK, M. Development of an analytical method for polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives. *Journal of Chromatography A*. 2004, č. 2, 103–107. DOI: 10.1016/j.chroma.2003.12.037.
- [34] CARABIAS-MARTÍNEZ, R., GONZALO, E.R., REVILLA-RUIZ, P., HERNÁNDEZ-MÉNDEZ, J. Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples. *Journal of Chromatography A*. 2005, č. 2, 1–17. DOI: 10.1016/j.chroma.2005.06.072.

- [35] PRIEGO-LÓPEZ, E., LUQUE DE CASTRO, M.D. Ultrasound-assisted extraction of nitropolycyclic aromatic hydrocarbons from soil prior to gas chromatography-mass detection. *Journal of Chromatography A*. 2003, č. 1, s. 1-6. DOI: doi.org/10.1016/S0021-9673(03)01289-5.
- [36] WALGRAEVE, C., DEMEESTERE, K., DEWULF, J., VAN LANGENHOVE, H. Oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric particulate matter: Molecular characterization and occurrence. *Atmospheric Environment*. 2010, č. 15, 1831–1846. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2009.12.004.
- [37] RIEDLLOVÁ, K. Izolační a separační metody. *VŠCHT* [online]. 2000 [cit. 2013-04-11]. Dostupné z: http://web.vscht.cz/poustkaj/ISM_LE_ASE_MASE_0907.pdf
- [38] CASTELLS, P., SANTOS, F.J., GALCERAN, M.T. Development of a sequential supercritical fluid extraction method for the analysis of nitrated and oxygenated derivatives of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban aerosols. *Journal of Chromatography A*. 2003, č. 2, 141–151. DOI: 10.1016/S0021-9673(03)01121-X.
- [39] POUSTKA, J. Extrakce tekutinou v nadkritickém stav. *VŠCHT* [online]. 2007 [cit. 2013-04-11]. Dostupné z: <http://web.vscht.cz/poustkaj/ISM%20SFE%20092007.pdf>
- [40] PROCHÁZKOVÁ, D. Extrakce tuhou fází (SPE) a mikroextrakce tuhou fází (SPME): extrakční metody pro přípravu vzorku k analýze. In HELÁN, V. Analýza organických látek. Český Těšín : 2 Theta, 2005. s. 25. ISBN 80-86380-29-7.
- [41] Adsorbenty a chemicky vázané fáze. *HPLC teorie* [online]. 2010 [cit. 2013-04-11]. Dostupné z: <http://www.hplc.cz/Teorie/adsorbent.html>
- [42] Oncology General Principles Continued. *Medical oncology* [online]. 2002 [cit. 2013-04-15]. Dostupné z: <http://cancer2000.net/introduction/page2b.htm>
- [43] *Plynová chromatografie* [online]. 2009 [cit. 2013-04-15]. Dostupné z: http://cheminfo.chemi.muni.cz/chem_sekce/predmety/C7300/GC/uvod.pdf
- [44] BRUNER, F. *Gas chromatographic environmental analysis*. USA: VCH Publisher, 1993. ISBN 1-56081-011-4.
- [45] SOMMER, L., et al. *Základy analytické chemie II*. Brno: Vutium, 2000. ISBN 80-214-1742-0.
- [46] ADAHCHOUR, M., BEENS, J., BRINKMAN U.A.T., VREULS, R.J.J. Recent developments in comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC × GC) : I. Introduction and instrumental set-up. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2006, č. 5, 438–454. DOI: 10.1016/j.trac.2006.03.002.
- [47] *Komprehenzivní dvoudimenzionální plynový chromatograf s hmotnostním detektorem (TOF)* [online]. 2012 [cit. 2013-04-16]. Dostupné z: <http://cz.leco-europe.com/product/pegasus-4d/>
- [48] Harynuk, J. (2009, June 18). Comprehensive Two-dimensional Gas Chromatography (GCxGC). *SciTopics*. Retrieved April 16, 2013, from

http://www.scitopics.com/Comprehensive_Two_dimensional_Gas_Chromatography_GCxGC.html

- [49] ČÁSLAVSKÝ, J. *Chromatografie*. (přednáška) Brno :VUT FCH, 16.11.2011
- [50] ČÁSLAVSKÝ, J. *Analytické metody technické praxe*. (přednáška) Brno :VUT FCH, 8.11.2010
- [51] ČÁSLAVSKÝ, J. *Instrumentální analýza*. (přednáška) Brno :VUT FCH, 9.11.2011
- [52] The mass spectrometer. *Chemguide* [online]. 2000 [cit. 2013-04-17]. Dostupné z: <http://www.chemguide.co.uk/analysis/masspec/howitworks.html>
- [53] *Analytická chemie II: první*. Praha: VŠCHT Praha, 1995. ISBN 80-7080-227-8
- [54] WANG, X.T., MIAO, Y., ZHANG, Y., LI, Y.CH., WU, M.H., YU, G. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in urban soils of the megacity Shanghai: Occurrence, source apportionment and potential human health risk. *Science of The Total Environment*. 2013, č. 447, 80–89. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.12.086.

10. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

- PAH- polycyklické aromatické uhlovodíky
- BaP- benzo[a]pyren
- DNA - deoxyribonukleová kyselina
- PM - prachové částice
- BaA- benzo[a]antracen
- PUF- polyuretnová pěna
- SPMD - trubice z polopropustné membrány
- LDPE - polyethylen s nízkou hustotou
- DCM- dichlormetan
- PSE - extrakce za zvýšeného tlaku
- USE - extrakce ultrazvukem
- NPAH - nitroderiváty polycyklických aromatických uhlovodíků
- LLE- extrakce kapalina - kapalina
- SFE - superkritická fluidní extrakce
- GPC - gelová permeační chromatografie
- CH - cyklohexan
- GC - plynná chromatografie
- PCB - polychlorované bifenyly
- PCDD - polychlorované dibenzodioxiny
- PTV - programově řízené odpařování
- TCD - tepelně vodivostní detektor
- FID - plamenově ionizační detektor
- ECD - detektor elektronového záchytu
- MS - hmotnostní spektrometr
- TOF - analyzátor doby letu
- HPLC - vysoce účinná kapalinová chromatografie
- MN - methylnaftalen
- DMN -dimethylnaftalen
- EN - ethylnaftalen
- NS - necílený screening